В. Л. КРЕТОВИЧ

ОСНОВЫ БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ

Анциферов

АНЦИФЕРОВА Т.А.

Профессор В. Л. КРЕТОВИЧ

ОСНОВЫ БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ

ИЗДАНИЕ ЧЕТВЕРТОЕ,
ПЕРЕРАБОТАННОЕ И ДОПОЛНЕННОЕ

*Допущено
Министерством высшего и среднего
специального образования СССР
в качестве учебника
для университетов
и технических институтов
пищевой промышленности*



ИЗДАТЕЛЬСТВО «ВЫСШАЯ ШКОЛА»

Москва — 1964

ПРЕДИСЛОВИЕ К ЧЕТВЕРТОМУ ИЗДАНИЮ

За несколько лет, прошедших со времени подготовки к печати предыдущего издания настоящего учебника, благодаря стремительному развитию биохимии были получены новые важные сведения, по-новому осветившие многие биохимические проблемы. Вместе с тем за это время была проведена большая работа по упорядочению энзимологической терминологии. Все это привело к необходимости значительной переработки материала учебника и внесения существенных изменений в списки литературы.

В своей работе автор пользовался советами и помощью ряда лиц, прочитавших рукопись и сделавших ценные замечания. В связи с этим автор считает своим долго выразить признательность А. Н. Белозерскому, Н. М. Сисакяну, В. Б. Евстигнееву, А. Р. Гусевой, А. В. Котельниковой, А. С. Спирину и В. И. Товарницкому. Автор особенно хотел бы отметить неизменно дружеское содействие, которое было ему оказано А. И. Опариным при подготовке как предыдущих, так и данного издания книги.

Автор считает необходимым поблагодарить профессора К. Окунуки (Университет Осака) за любезное предоставление микрофотографии кристаллов цитохрома С из пшеничных зародышей.

Автор весьма признателен Ж. В. Успенской, оказавшей большую помощь при подготовке рукописи к печати и при чтении корректур.

Со времени выхода в свет первого издания учебника он был переведен на украинский, грузинский, анг-

лийский, немецкий, польский, чешский, румынский, японский, китайский (два издания) и вьетнамский языки.

Автор заранее приносит благодарность всем читателям книги, которые сообщат ему свои пожелания и замечания, направленные на улучшение настоящего учебника.

Август 1963 г.

Автор

ВВЕДЕНИЕ

«Истинный химик должен быть теоретиком и практиком».

М. В. Ломоносов

Биологическая химия, или биохимия, называемая также физиологической химией, изучает химический состав организмов и химические превращения, происходящие в процессе жизнедеятельности человека, животных, растений и микроорганизмов. Совокупность этих превращений составляет биологический обмен веществ, лежащий в основе той формы движения материи, которую мы называем жизнью.

Изучение веществ, входящих в состав организмов, является задачей статической биохимии, которая теснейшим образом связана с органической химией. Изучение химических превращений, происходящих в процессе жизнедеятельности организмов, т. е. изучение химической стороны обмена веществ, является задачей динамической биохимии. Необходимо подчеркнуть, что статическая и динамическая биохимия неразрывно связаны между собой — изучение биохимических процессов немыслимо без изучения веществ, участвующих в этих процессах.

Уже со времен глубокой древности люди имели дело с целым рядом биохимических процессов, лежащих в основе различных производств: хлебопечения, сыроварения, виноделия, выделки кож и т. д. Стремление повысить урожайность полей и использовать различные растения для изготовления пищи, лекарств, красок, тканей, дубителей, пряностей приводило к необходимости изучать составные части растений и влияние различных веществ на их развитие и рост.

Борьба с болезнями приводила к необходимости изучать процессы, происходящие в теле здорового и больного человека, а также влияние на него различных целебных средств.

В древности и средневековье сведения о составе организмов и о происходящих в них процессах были весьма ограничены и случайны. В средние века начинается применение химических методов к

изучению растений, животных и человека. В этом направлении много было сделано в VIII—X вв., в частности арабами, развившими алхимию, которая являлась первоначальной формой химии; особенно большое значение имели труды великого философа, естествоиспытателя и врача Абу Али Ибн-Сины (лат. Авиценны).

Однако более глубокое научное исследование природы началось со второй половины XV в., с эпохи Возрождения, когда была сломлена духовная диктатура церкви и началось освобождение естествознания от пут мракобесия и теологии. В эту эпоху на основе развития экспериментальной химии начинается изучение химического состава организмов и происходящих в них превращений веществ. Необходимость создания общей теории химических превращений приводит к возникновению теории флогистона. Согласно этой теории, господствовавшей в XVII и XVIII вв., процесс горения обусловливается наличием в телах особого невесомого вещества — флогистона. Флогистонная теория способствовала развитию экспериментальных исследований в области химии и ее освобождению от фантастических измышлений алхимиков. Однако теория флогистона, как указывает Ф. Энгельс, принадлежит к числу теорий, в «которых действительные отношения поставлены на голову, в которых отражение принимается за отражаемый объект»[1].

Таким образом, флогистонная теория, не отражая реальной действительности, была разновидностью идеализма.

Сокрушительный удар по идеализму в естествознании был нанесен основоположником русской науки Михаилом Васильевичем Ломоносовым, открывшим закон сохранения вещества и движения. Этот закон впервые был сформулирован М. В. Ломоносовым в 1748 г. в письме к действительному члену Петербургской академии наук, знаменитому математику Леонарду Эйлеру. Ломоносов писал: «Все перемены, в натуре случающиеся, такого суть состояния, что сколько чего от одного тела отнимется, столько присовокупится к другому. Так, ежели где убудет несколько материи, то умножится в другом месте... Сей всеобщий естественный закон простирается и в самые правила движения: ибо тело, движущее своей силой другое, столько же оныя у себя теряет, сколько сообщает другому, которое от него движение получает»[2].

Великое открытие Ломоносова явилось началом новой эры в науке, началом внедрения точных количественных методов в естествознание вообще и, в частности, в химию и физиологию. На основе закона сохранения вещества и накопившегося к концу XVIII в. значительного экспериментального материала Лавуазье количественно исследовал и объяснил процессы горения и дыхания. Применение количественных химических методов позволило установить

---

[1] Ф. Энгельс. Диалектика природы. Госполитиздат, 1955, стр. 26—27.

[2] М. В. Ломоносов. Избранные философские произведения. М., 1950, стр. 341.

основные закономерности питания растений, в частности такого важнейшего процесса, каким является фотосинтез. В развитии научных представлений о химизме питания растений важную роль сыграли работы Т. Соссюра, Ж. Б. Буссенго и Ю. Либиха. Химия все шире и глубже стала внедряться в изучение явлений жизни. По выражению А. И. Герцена, «естествоиспытатель, вооруженный микроскопом, преследует жизнь до последнего предела, следит за ее закулисной работой. Физиолог на этом пороге жизни встретился с химиком; вопрос о жизни стал определеннее, лучше поставлен; химия заставила смотреть не на одни формы и их видоизменения, — она в лаборатории научила допрашивать органические тела о их тайнах»[1].

Дальнейшее внедрение химии в биологию привело в конце XIX в. к обособлению и развитию биологической химии как самостоятельной научной дисциплины.

Она развивалась на основе успехов органической химии, на основе расширения круга изучаемых ею природных веществ и усовершенствования методов синтеза органических соединений. Однако уже само название — биологическая или физиологическая химия — отражает специфику этой науки.

Поскольку в основе всех проявлений жизнедеятельности, всех функций организма лежит обмен веществ, биохимия является одним из важнейших разделов науки о жизни — биологии.

Как по своему историческому развитию, так и по существу своего содержания и применяемых методов, биологическая химия теснейшим образом связана с физиологией — наукой, изучающей закономерности явлений жизни. Качественное своеобразие физиологии и неразрывно связанной с нею биологической химии может быть выражено словами Ф. Энгельса, который указывал, что «физиология есть, разумеется, физика и в особенности химия живого тела, но вместе с тем она перестает быть специально химией: с одной стороны, сфера ее действия ограничивается, но, с другой стороны, она вместе с тем поднимается здесь на некоторую более высокую ступень»[2].

Биохимия изучает отдельные этапы процессов обмена веществ, их взаимосвязь и взаимообусловленность, изучает физиологическую роль отдельных веществ в жизни организмов, процесс биосинтеза сложного органического вещества из простейших веществ, а также биогеохимические превращения растительных и животных остатков (образование илов, торфа, минерализацию органических остатков).

Важнейшей задачей, стоящей перед биохимией, является создание искусственным путем белка — вещества, являющегося носителем жизни.

[1] А. И. Герцен. Письма об изучении природы. М., 1946, стр. 21.
[2] Ф. Энгельс. Диалектика природы, 1955, стр. 204.

Ф. Энгельс писал по этому поводу следующее: «...остается добиться еще только одного: объяснить возникновение жизни из неорганической природы. На современной ступени развития науки это означает не что иное, как следующее: изготовить белковые тела из неорганических веществ. Химия все более и более приближается к решению этой задачи, хотя она и далека еще до этого. Но если мы вспомним, что только в 1828 г. Вёлер получил из неорганического материала первое органическое тело — мочевину, если мы обратим внимание на то, какое бесчисленное множество так называемых органических соединений получается теперь искусственным образом без помощи каких бы то ни было органических веществ, то мы, конечно, не потребуем от химии, чтобы она остановилась перед проблемой белка. В настоящее время она в состоянии изготовить всякое органическое вещество, состав которого она точно знает. Как только будет установлен состав белковых тел, химия сможет приступить к изготовлению живого белка»[1].

В этих словах Энгельс подчеркнул решающую роль, которую играет белок в явлениях жизни, и вместе с тем наметил путь к решению одной из величайших проблем естествознания — проблемы искусственного создания живого вещества.

За период, прошедший со времени работы Ф. Энгельса над «Диалектикой природы», наука достигла замечательных успехов. Детально изучены состав и свойства многих белковых веществ, намечены основные закономерности их химического строения, установлены важнейшие типы реакций, лежащих в основе обмена веществ и превращения белков в организме. Разработана материалистическая теория возникновения жизни на Земле, принимаемая в настоящее время большинством исследователей.

Таким образом, наука приблизилась к решению задачи, поставленной в свое время Энгельсом, — к осуществлению синтеза белка.

Чрезвычайно важной проблемой, которая должна быть глубоко исследована современной биохимией, является образование клеток из неклеточного живого вещества. Еще Ф. Энгельс указывал на то, что клетка могла образоваться лишь в процессе длительного развития первоначально возникшего живого белка. Он писал, что «в органической жизни надо рассматривать образование клеточного ядра тоже как явление поляризации живого белка»[2], и указывал, что даже самые простые современные организмы являются результатом сложного и длительного развития. Задачей биохимиков является исследование обмена веществ у неклеточных форм живого вещества и выяснение изменений в обмене веществ, лежащих в основе формирования клеточной структуры.

Крупнейшей проблемой современной биохимии является вопрос о связи процессов обмена веществ с теми или иными физиологиче-

---

[1] Ф. Энгельс. Диалектика природы, стр. 156.
[2] Там же, стр. 166.

скими функциями организма. Исследование биохимических превращений в организме должно быть неразрывно связано с выяснением условий, при которых возникает и развивается та или иная физиологическая функция. Это важнейшее направление в современной биохимии получило название функциональной биохимии.

Развитие органического мира, наследственность и ее изменчивость, образование новых видов — все эти основные проблемы биологической науки могут быть изучены и подчинены воле человека только на основе глубоких биохимических исследований, на основе выяснения закономерностей обмена веществ и сдвигов, происходящих в нем под влиянием условий внешней среды.

На всем протяжении истории развития естествознания шла острая борьба между материалистическим и идеалистическим истолкованием сущности жизни.

Идеализм в биологии, получивший в свое время название витализма, утверждает, что жизнь является результатом действия каких-то сил, не подчиняющихся законам сохранения вещества и энергии, не познаваемых человеческим умом и наукой. Таким образом, идеалисты заранее обрекают на неудачу всякие попытки познать сущность жизненных явлений с целью управления ими в желательном для человека направлении.

Величайшим успехом науки и поражением идеализма было открытие М. В. Ломоносовым «всеобщего естественного закона» сохранения вещества и движения. Это открытие способствовало утверждению материалистических принципов в изучении жизненных процессов и внедрению в биологию точных физических и химических методов.

В процессе развития науки витализм неизменно отступал под натиском экспериментальной биохимии.

Так, например, чрезвычайно острая борьба развертывалась в свое время вокруг вопроса о возможности синтеза чисто химическими методами различных органических соединений. Виталисты утверждали, что подобные соединения могут быть синтезированы только лишь в организмах животных и растений. Однако после того как Ф. Вёлер искусственно из неорганических веществ получил мочевину, А. Бутлеров и Э. Фишер — сахара́ и М. Бертло́ — жиры, химиками были синтезированы вне организма многие соединения, играющие важную роль в обмене веществ. Основой для синтезов подобного рода послужила теория строения органических соединений, созданная великим русским химиком А. М. Бутлеровым. На этой основе было синтезировано множество самых разнообразных соединений, начиная с простейших спиртов, кислот, эфиров и т. п. и кончая такими, как углеводы, витамины, дубильные вещества и другие. В настоящее время химики-органики и биохимики приближаются к синтезу белков — самых сложных органических соединений, лежащих в основе жизни.

Длительной и весьма напряженной дискуссией сопровождалось исследование химизма спиртового брожения. Ученые-виталисты считали, что спиртовое брожение может вызываться только лишь живыми дрожжевыми клетками, и полагали, что внеклеточное брожение невозможно. Однако биохимикам в результате длительных работ удалось выделить из дрожжевых клеток препараты, вызывающие спиртовое брожение.

Несмотря на успехи науки в познании закономерностей жизненных явлений, и в наше время некоторые естествоиспытатели придерживаются идеалистических, а иногда откровенно мистических представлений о сущности жизни. Так, например, известный физик Э. Шрёдингер в своих лекциях «Что такое жизнь с точки зрения физики?» договаривается до того, что все отправления организма и специфический для данного вида растений или животных обмен веществ возникает под влиянием воли божества. Подобные взгляды являются разновидностью идеализма.

Диалектический материализм при изучении сущности жизни исходит из положений, с гениальной четкостью сформулированных в свое время Фридрихом Энгельсом в следующих словах: «Жизнь — это способ существования белковых тел, существенным моментом которого является *постоянный обмен веществ с окружающей их внешней природой*, причем с прекращением этого обмена веществ прекращается и жизнь, что приводит к разложению белка»[1].

Из формулировки Энгельса вытекают два чрезвычайно важных принципиальных вывода. Первый из них заключается в том, что материальной основой жизни являются белковые вещества, которые представляют собой самые сложные органические соединения и обладают колоссальным многообразием химических функций. Второй вывод указывает на то, что жизненные отправления являются результатом постоянного взаимодействия организма и окружающей его внешней среды, результатом обмена веществ.

Таким образом, современная материалистическая биология исходит из того, что в организме нет каких-то непознаваемых сил или процессов и что установление химического строения белков и выяснение сущности процессов обмена веществ позволит не только разрешить одну из крупнейших проблем науки — создать искусственным путем живое вещество, но и управлять организмами в желательном для человека направлении.

Материалистическая биология считает, что на основе глубокого изучения процессов обмена веществ и управления этими процессами возможно направленное изменение наследственной природы организмов, выведение новых, более ценных пород животных и сортов растений, повышение продуктивности животноводства и урожайности сельскохозяйственных культур.

---

[1] Ф. Энгельс. Диалектика природы, стр. 244.

Биохимия как самостоятельная наука зародилась в XIX в. Однако особенно бурное развитие биохимии началось в XX в.

В настоящее время биохимия представляет собой весьма разветвленную область знания, охватывающую целый ряд разделов, выросших в самостоятельные дисциплины.

В зависимости от изучаемого объекта биохимия подразделяется на биохимию растений, биохимию микробов, биохимию животных и медицинскую биохимию. Исключительно важная роль ферментов — веществ белковой природы, являющихся катализаторами почти всех химических процессов, происходящих в организме, привела к обособлению крупного раздела биохимии — ферментологии, изучающей свойства ферментов, условия их действия и их роль в обмене веществ.

Биохимия имеет большое практическое значение для медицины, сельского хозяйства и ряда отраслей промышленности. Исключительно важная роль биохимических процессов во многих отраслях промышленности, занимающихся переработкой сырья растительного или животного происхождения, необходимость научного обоснования и усовершенствования технологии привели к созданию технической биохимии, включающей в себя биохимию зерна и хлебопечения, биохимию виноделия, биохимию чайного производства и т. д.

Биохимия растений, изучающая химический состав растительных организмов и протекающие в них биохимические процессы, имеет большое значение для растениеводства и ряда отраслей пищевой промышленности. Ее значение для растениеводства заключается прежде всего в том, что изучение процессов обмена веществ у растений дает нам возможность управлять развитием растительных организмов.

Установление в растениях закономерностей синтеза углеводов, белков, жиров, витаминов, алкалоидов и других соединений даст возможность создавать для соответствующих сельскохозяйственных культур условия, обеспечивающие получение наибольшего количества данного вещества.

Направленное изменение биохимическими методами обмена веществ позволит создавать новые формы растительных организмов, наиболее ценные в хозяйственном отношении.

Селекция новых сортов многих растений целиком основана на применении биохимических методов, с помощью которых определяют содержание в данном сорте того или иного вещества: белка, сахара, масла, крахмала, витаминов и т. д. При этом особое значение имеет разработка новых, быстрых и вместе с тем достаточно точных экспресс-методов количественного определения в растительном сырье того или иного вещества.

Лишь глубокое познание сущности биохимических процессов, происходящих при фотосинтезе, позволит с наибольшей эффективностью использовать энергию солнечных лучей и в конечном счете

осуществить мечту К. А. Тимирязева об искусственном получении питательных веществ из углекислого газа и воды за счет солнечной энергии.

Отмечая исключительную важность этой проблемы, выдающийся советский натуралист академик В. И. Вернадский писал: «Пользуясь непосредственно энергией солнца, человек овладеет источником энергии зеленых растений, той формы ее, которой он сейчас пользуется через посредство этих последних как для своей пищи, так и для топлива. Непосредственный синтез пищи, без посредничества организованных существ, как только он будет открыт, коренным образом изменит будущее человека»[1].

В настоящее время, когда человечество наряду с энергией солнечного света может располагать неограниченными энергетическими ресурсами, таящимися в недрах атома, перед учеными возникает грандиозная проблема синтеза питательных веществ из углекислого газа, воды и аммонийных солей за счет строго контролируемых источников атомной энергии. Разрешение этой проблемы даст человечеству возможность обеспечить себя практически неограниченным источником пищи.

Сложной и ответственной задачей, стоящей перед биохимией растений, является глубокое изучение обмена веществ у растений и отдельных их органов — семян, клубней и т. д., а также влияния на него различных факторов внешней среды. Это имеет большое значение для понимания тех процессов обмена веществ, которые протекают в хранящемся растительном сырье: зерне, плодах или овощах, процессов, от которых зависят стойкость данного сырья во время хранения и величина потерь. Академик А. И. Опарин указывает, что так называемые «нормальные» потери материалов, происходящие при хранении, являются по существу результатом нашего невежества, нашего незнания внутренних биохимических процессов, происходящих в клетках и тканях зерна, свеклы, картофеля и прочего живого сырья. Лишь на основе глубокого изучения сущности биохимических процессов, разыгрывающихся в хранящемся сырье растительного происхождения, и исследования влияния на эти процессы различных факторов возможна наиболее рациональная организация хранения больших масс того или иного растительного сырья и сведение потерь до минимума.

Исключительно велика роль биохимии в усовершенствовании технологических процессов пищевой промышленности и создании новых схем и принципов переработки пищевого сырья растительного происхождения.

Советская пищевая промышленность превратилась в крупную, насыщенную техникой и механизированную отрасль народного хозяйства, развивающуюся на строго научных основах. В каждой из

[1] В. И. Вернадский. Биогеохимические очерки. М., изд-во АН СССР, 1940, стр. 55.

отдельных отраслей пищевой промышленности ведется большая научно-исследовательская работа, в которой существенную роль играют биохимики. Благодаря глубоким биохимическим исследованиям советских ученых удалось весьма существенно рационализировать многие технологические процессы, а некоторые отрасли промышленности создать совершенно заново. Достаточно привести лишь несколько примеров, иллюстрирующих это положение.

В табачной промышленности в течение длительного времени ферментация табака производилась лишь в строго определенное время года, когда температурные условия позволяли осуществлять этот важный процесс сырьевой обработки табака. Советский ученый, профессор А. И. Смирнов, на основе глубокого изучения биохимических процессов, протекающих во время ферментации, а также условий, способствующих осуществлению этих процессов, разработал совершенно новый метод внесезонной ферментации табака. Предложенный им метод лег в основу создания специальных ферментационных заводов, работающих в любое время года в тщательно контролируемых условиях. Внесезонная ферментация дала чрезвычайно большую экономию советской табачной промышленности.

Вторым примером важности биохимических исследований для усовершенствования технологических процессов в пищевой промышленности могут служить работы А. И. Опарина, А. Л. Курсанова и их сотрудников в области биохимии чайного производства. Эти исследования вскрыли сущность биохимических процессов, протекающих во время переработки чайного листа, и их влияние на качество готовой продукции. На основе этих исследований удалось усовершенствовать технологию чайного производства и внедрить на чайных фабриках систему биохимического контроля, дающую возможность получать чай более высокого качества.

Наконец, можно указать на исследования академика С. П. Костычева и профессора В. С. Буткевича, которые глубоко изучили биохимические процессы, протекающие во время развития некоторых плесневых грибов на сахарных растворах, и на этой основе разработали промышленные схемы получения лимонной кислоты, широко применяемой в некоторых отраслях пищевой промышленности, а также в медицине.

Не менее существенна роль биохимических процессов в таких отраслях пищевой промышленности, как мукомольная, хлебопекарная, витаминная, консервная, винодельческая, пивоваренная, спирто-водочная. Такой важный этап подготовки зерна к помолу, как кондиционирование, заключается в обработке зерна водой и теплом, во время которой происходит ряд биохимических процессов, вызывающих улучшение хлебопекарных качеств зерна. Глубокие ферментативные превращения веществ происходят во время замеса и брожения теста, а также во время выпечки хлеба. Качество готового хлеба чрезвычайно сильно зависит от химического состава муки и от активности содержащихся в ней ферментов. Именно

повышенной активностью некоторых ферментов объясняются весьма низкие хлебопекарные качества муки из проросшего или морозобойного зерна, а также из зерна, поврежденного клопами-черепашками.

Витаминная промышленность является той отраслью пищевой промышленности, которая полностью основывается на биохимии как в изыскании сырьевых ресурсов, так и в технологии, а также применении витаминов.

В консервной промышленности весьма нежелательными являются некоторые биохимические процессы, приводящие к разрушению витаминов и ухудшению потребительских достоинств продукта. Ряд технологических приемов, применяемых при консервировании, направлен именно на предотвращение подобного рода процессов.

Чрезвычайно тесно связаны с биохимией все отрасли пищевой промышленности, основанные на использовании различных видов брожения. Весьма характерно, например, что ведущий цех современного завода шампанских вин носит название биохимического цеха.

Таким образом, очевидно, что в ряде отраслей пищевой промышленности, занимающихся переработкой растительного сырья, роль биохимии весьма существенна.

В развитии биохимии вообще и биохимии растений в частности, а также ее технических приложений, весьма велик вклад наших отечественных ученых. До Великой Октябрьской социалистической революции биохимией в России занимались лишь отдельные ученые, работавшие главным образом на кафедрах в высших учебных заведениях. Многие из этих исследователей оставили глубокий след в науке, создали крупные научные школы и заложили основы некоторых важнейших разделов биохимии.

Так, в самом начале XIX в., в 1814 г., действительным членом Российской академии наук К. С. Кирхгофом было сделано важное открытие: он установил, что в проросшем зерне содержится вещество, вызывающее осахаривание крахмала. Это вещество было первым описанным наукой ферментом и получило впоследствии название диастаза, или амилазы. Открытие Кирхгофа нужно рассматривать как начало развития ферментологии.

Идею о первостепенной роли обмена веществ в жизненных процессах обосновал и развил один из основоположников биохимии в России, профессор Казанского и Харьковского университетов, а затем Военно-медицинской академии в Петербурге, академик Александр Яковлевич Данилевский (1838—1923). Под его руководством был выполнен целый ряд экспериментальных исследований, установивших принципиально весьма важный факт обратимости действия ферментов. Данилевским был предложен метод разделения ферментов с помощью избирательной адсорбции их из раствора на коллоидных осадках. Этот метод впоследствии был использован

выдающимся немецким биохимиком Р. Вильштеттером для выделения и очистки многих ферментов.

Крупнейший вклад в дело изучения ферментов и выяснения сущности их действия был внесен в науку великим русским естествоиспытателем академиком Иваном Петровичем Павловым (1849—1936) и его школой. Его работы, посвященные изучению ферментов пищеварительного тракта у животных, являются классическими и дали мощный толчок дальнейшему развитию ферментологии.

В своих «Лекциях по физиологии», подводя итоги сведениям о химической природе ферментов, Павлов высказывал мысль о том, что «ферменты — тела белковой природы». Эта идея, высказанная Павловым в самом начале развития ферментологии, в настоящее время полностью доказана экспериментально. Весьма важную роль сыграли исследования Павлова и его ученика Н. П. Шеповальникова в разработке понятия о зимогене — неактивной форме фермента, превращающейся под влиянием особых активаторов в активный фермент.

В своих работах и выступлениях Павлов неоднократно подчеркивал, что один и тот же фермент обладает как прямым, так и обратным действием. Он писал по этому поводу: «Мы имеем... данные относительно жирового фермента, который не только разлагает жир на глицерин и жирные кислоты, но и наоборот, из глицерина и жирных кислот синтезирует жир...»[1]. Отмечая принципиальную важность работ А. Я. Данилевского и его учеников, доказавших обратимость действия ферментов, расщепляющих белки, Павлов писал: «Смеем думать, что с признанием обратимых реакций белковых ферментов, которых мы имеем теперь целый ряд, вероятно для различных стадий разложения белка, биологическая химия выйдет на прямую дорогу, ведущую к разрешению ее важнейшего вопроса о синтезе белкового вещества»[2]. Биохимики в настоящее время приближаются к разрешению этой важнейшей задачи, поставленной Павловым.

Крупная биохимическая школа была создана во второй половине XIX в. Г. Бунге, профессором университета в Юрьеве (Тарту). Им в 1888 г. был написан один из первых русских учебников биологической химии, получивший в свое время весьма широкое распространение.

В Тартуском университете начал свою деятельность основоположник учения о витаминах — Николай Иванович Лунин (1854—1937). Занимаясь вопросом о влиянии различных питательных веществ на рост молодых мышей, он установил, что нормальный рост наблюдается лишь тогда, когда животные получают с пищей не только белки, жиры, углеводы и минеральные соли, но также незначительные количества каких-то других веществ органической

---

[1] И. П. Павлов. Полное собрание трудов, т. 2, М., 1946, стр. 611.
[2] Там же, стр. 446.

природы, содержащихся в молоке. Эти вещества, без которых невозможны нормальный рост и развитие животных, впоследствии получили название витаминов.

Единственной исследовательской биохимической лабораторией, существовавшей в России до революции, была лаборатория профессора М. В. Ненцкого (1847—1901) в Институте экспериментальной медицины в Петербурге. Ненцкий отличался большой разносторонностью своих научных интересов, опубликовал целый ряд выдающихся работ и является одним из основоположников нашей отечественной биохимии. Особенную известность получили проведенные им совместно с академиком И. П. Павловым исследования в области химизма образования мочевины у животных, работы, посвященные изучению разложения белков под влиянием бактерий, и исследования по химии зеленого красящего вещества растений — хлорофилла. Ненцкий совместно с Л. Мархлевским установил, что хлорофилл и красящее вещество крови — гем — имеют очень близкое химическое строение. В свое время великий русский ученый К. А. Тимирязев подчеркивал, что это открытие имеет большое принципиальное значение.

В Институте экспериментальной медицины в Петербурге работал один из корифеев микробиологии — Сергей Николаевич Виноградский (1856—1953). Его классические исследования в области обмена веществ у микроорганизмов имеют чрезвычайно важное значение для общей физиологии и биохимии. Ближайшим сотрудником С. Н. Виноградского был академик Василий Леонидович Омелянский (1867—1928), известный своими трудами в области микробиологии и биохимии брожений.

Еще М. В. Ломоносов указывал на исследование растений как на одну из важнейших задач химической науки. В плане лекций по химии он намечает главу, которую называет следующим образом: «Часть первая экспериментальной химии — содержит опыты с растениями»[1].

Первый учебник биохимии, изданный в России, — «Курс физиологической химии», опубликованный в 1847 г. профессором Харьковского университета А. Ходневым, в значительной части был посвящен химии растительных веществ. Ходнев, экспериментально работавший в области изучения пектинов, очень много места уделяет в своем труде описанию таких веществ растительного происхождения, как крахмал, инулин, лихенин, растительные слизи, маннит, хлорофилл, пектин.

Биохимия растений до Великой Октябрьской социалистической революции развивалась главным образом на кафедрах ботаники и физиологии растений.

---

[1] Л. Б. Модзалевский. Рукописи Ломоносова в Академии наук СССР. М., 1937, стр. 39

Одним из первых дореволюционных центров биохимии растений в нашей стране была кафедра физиологии растений Петербургского университета, возглавлявшаяся академиком Андреем Сергеевичем Фаминцыным (1835—1918). Выдающейся заслугой Фаминцына было создание крупного обзорного труда «Обмен веществ и превращение энергии в растениях», который в течение многих лет служил настольным руководством для ряда поколений русских физиологов и биохимиков. Этот труд Фаминцына был просмотрен великим русским химиком А. М. Бутлеровым, который способствовал его скорейшему опубликованию. Наиболее выдающимися учениками Фаминцына были профессор Дмитрий Иосифович Ивановский (1864—1920) и академик Иван Парфеньевич Бородин (1847—1930).

Д. И. Ивановский, еще будучи начинающим ученым, открыл фильтрующиеся вирусы, вызывающие целый ряд заболеваний у растений и животных. Это открытие Ивановского имело исключительно большое значение и явилось началом развития науки о вирусах, получившей название вирусологии.

И. П. Бородин отличался широтой своих научных интересов. Часть работ он посвятил исследованию дыхания растений и участия белков в этом процессе. В этих работах он развивал совершенно правильную, но оспаривавшуюся в то время идею о теснейшей связи и сопряженности дыхания растений с превращением белков. Другой цикл биохимических работ Бородина был посвящен выяснению химической природы и условий накопления в растениях продуктов глубокого расщепления белков.

Глубокий след в науке оставила деятельность профессора Воронежского университета Михаила Семеновича Цвета (1872—1919), работавшего над изучением хлорофилла и желтых красящих веществ растений. М. С. Цветом впервые был разработан хроматографический адсорбционный метод разделения смесей различных содержащихся в растворе веществ. Этот метод в настоящее время является одним из важнейших методов, применяемых в органической химии и биохимии для разделения смесей различных веществ и выделения отдельных веществ в чистом виде.

Исключительно важное значение в развитии биохимии растений имела школа замечательного русского физиолога, профессора Московского университета и Петровской (ныне Тимирязевской) сельскохозяйственной академии Климента Аркадьевича Тимирязева (1843—1920). Тимирязев прославился классическими исследованиями в области изучения процесса усвоения углекислого газа зелеными растениями на свету (фотосинтеза), а также работами по физике и химии хлорофилла. Будучи одним из крупнейших русских естествоиспытателей и прогрессивных общественных деятелей, Тимирязев привлекал в свою лабораторию талантливых молодых ученых, многие из которых стали впоследствии крупнейшими исследователями в области биохимии растений.

Из учеников Тимирязева особенно большую роль в развитии биохимии растений сыграли академики Владимир Иванович Палладин (1859—1922) и Дмитрий Николаевич Прянишников (1865—1948).

В. И. Палладин, профессор Петербургского университета, один из наиболее выдающихся исследователей в области физиологии и биохимии растений, заложивший основы современных представлений о химизме растений, создал крупную школу биохимиков растений, к которой принадлежали академик С. П. Костычев (1877—1931), профессора Н. Н. Иванов и В. К. Залесский.

Академик Сергей Павлович Костычев, известный своими трудами в области химизма брожения, дыхания растений и образования органических кислот у растений, после Великой Октябрьской социалистической революции возглавлял лабораторию биохимии и физиологии растений Академии наук СССР и кафедру физиологии и биохимии растений Ленинградского университета.

Д. Н. Прянишников, прославленный основатель школы советских агрохимиков, был вместе с тем и выдающимся биохимиком, основоположником современных представлений о роли азота в жизни растений и химизме превращения белков в растительном организме. Его работы в этой области признаны классическими. Среди учеников Прянишникова особо нужно отметить профессоров А. А. Шмука и А. И. Смирнова, крупнейших исследователей в области биохимии табака.

Большое значение имеют труды профессора Владимира Степановича Буткевича (1872—1942), выдающегося ученика К. А. Тимирязева. Его работы посвящены главным образом превращениям белков в растениях и химизму образования органических кислот (лимонной, щавелевой и других) плесневыми грибами и высшими растениями.



Алексей Николаевич Бах (1857 — 1946)

Бурный расцвет биохимии начался в нашей стране после Великой Октябрьской социалистической революции. Этому способствовали прежде всего исключительно благоприятные условия, созданные для научной работы Советской властью.

Уже в 1921 г. крупнейший ученый и общественный деятель Алексей Николаевич Бах (1857—1946) организует в Москве Научно-исследовательский биохимический институт Народно-

го комиссариата здравоохранения, сыгравший важную роль в развитии биохимии и в подготовке биохимических кадров.

Академик А. Н. Бах является одним из основоположников современных представлений о химизме дыхания, организатором и руководителем школы советских биохимиков.

В Московском университете развертываются работы академика Николая Дмитриевича Зелинского и его сотрудников по изучению строения белка.

В 1925 г. А. В. Палладин организует в Харькове Биохимический институт, который в настоящее время входит в состав Академии наук Украинской ССР и является одним из крупнейших биохимических центров в СССР.

В конце 20-х г. под руководством профессора Н. Н. Иванова начинает свою работу Отдел биохимии Всесоюзного института растениеводства в Ленинграде. Коллективом этого Отдела проделана очень большая работа по биохимической характеристике важнейших видов и сортов культурных растений, обобщенная в капитальном восьмитомном труде «Биохимия культурных растений» и в ряде специальных монографий.

В 1930 г. в Московском университете была создана кафедра биохимии растений, организатором и первым руководителем которой был выдающийся советский биохимик и педагог, профессор Александр Робертович Кизель (1882—1948).

Центром подготовки кадров по химии растений становится кафедра органической химии Московской ордена Ленина сельскохозяйственной академии им. К. А. Тимирязева. Под руководством академика Николая Яковлевича Демьянова (1861—1938) сотрудниками этой кафедры был создан ряд учебных пособий по методам анализа растений и по химии веществ растительного происхождения. В 1933 г. вышла в свет книга Н. Я. Демьянова и В. В. Феофилактова «Химия растительных веществ». В 1934 г. А. В. Благовещенским было опубликовано пособие «Биохимия растений».

В 1935 г. академиком А. Н. Бахом и его ближайшим сотрудником А. И. Опариным в Москве создается Институт биохимии Академии наук СССР, носящий в настоящее время имя А. Н. Баха.

Этот институт является основным центром научно-исследовательской работы в области биохимии растений и технической биохимии. Под руководством академиков А. Н. Баха и А. И. Опарина в его стенах сформировалась крупнейшая в СССР биохимическая школа, плодотворно работающая над изучением обмена веществ у растений и разрешающая в тесном содружестве с рядом отраслевых институтов целый ряд проблем технической биохимии.

В 1945 г. в Москве был организован Институт медицинской и биологической химии Академии медицинских наук. В этом институте ведутся большие работы в области белкового обмена, а также исследования над кристаллическими белками.

Разнообразные исследования по биохимии и химической физио-

логии растений проводятся в Институте физиологии растений имени К. А. Тимирязева АН СССР в Москве. За последние годы созданы Институт радиационной и физико-химической биологии, а также Институт природных соединений Академии наук СССР, Институт физиологии растений в Киеве.

Организуются многочисленные кафедры биологической химии в университетах, медицинских и сельскохозяйственных учебных заведениях, являющиеся важнейшими центрами подготовки кадров и проводящие большую научно-исследовательскую работу в области биохимии. Кафедры биохимии создаются в технологических вузах, связанных с переработкой растительного сырья.

Широким фронтом развернулась работа в области биохимии в институтах Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В. И. Ленина, а также в ряде отраслевых научно-исследовательских институтов, обслуживающих соответствующие отрасли промышленности: мукомольное и элеваторно-складское хозяйство, хлебопекарную, сахарную, витаминную, винодельческую, кондитерскую, табачную, чайную, жировую, консервную промышленности.

Стремление теснейшим образом увязать глубокие теоретические исследования с запросами практики и внедрить получаемые результаты в народное хозяйство является характернейшей особенностью советской биохимической школы.

В области технической биохимии советская наука добилась значительных успехов. Большой отряд советских ученых работает в области биохимии зерна, муки и хлеба, плодов, овощей, чая, табака и т. д. Широкий круг исследований проводится по выявлению новых витаминных ресурсов и разработке новых принципов технологии в витаминной промышленности, а также в области биохимии брожений.

Все исследования в области технической биохимии оказали большую помощь нашему народному хозяйству в деле усовершенствования способов хранения различного пищевого сырья растительного происхождения, рационализации методов его переработки, налаживания контроля технологического процесса и разработки объективных методов определения качества сырья и готовой продукции.

Исключительно важные задачи как в отношении дальнейшего развития теоретических исследований, так и в отношении еще более широкого внедрения достижений биохимии в народное хозяйство СССР ставят перед советскими биохимиками постановление ЦК КПСС и Совета Министров СССР «О мерах по дальнейшему развитию биологической науки и укреплению ее связи с практикой»[1] и решения декабрьского Пленума ЦК КПСС (1963) о химизации народного хозяйства.

---

[1] «Правда», № 25 (16246), от 25 января 1963 г.

Важным показателем успехов биохимии в нашей стране является увеличение числа публикуемых работ.

До Великой Октябрьской социалистической революции в России отсутствовали периодические издания, посвященные биохимии.

С 1922 г. под редакцией академика В. Л. Омелянского начинает издаваться ежегодник «Успехи биологической химии», в котором публикуются обзорные статьи, освещающие достижения в различных разделах биохимии. В настоящее время Академией наук СССР издается журнал «Биохимия», основанный академиком А. Н. Бахом. Академия наук Украинской ССР издает «Украинский биохимический журнал», организованный по инициативе А. В. Палладина. Значительное число биохимических статей экспериментального характера публикуется также в журналах «Доклады Академии наук СССР» и «Физиология растений». Обзоры по различным вопросам биохимии помещаются в журналах «Успехи химии» и «Успехи современной биологии». Издается значительное число сборников и монографий, посвященных отдельным разделам общей биохимии, биохимии растений и технической биохимии. В реферативном журнале «Биологическая химия», издаваемом Академией наук СССР, приводятся сведения о биохимической литературе, публикуемой во всем мире.

Благодаря заботе партии и Советского правительства в нашей стране за годы Советской власти выросли многочисленные кадры высококвалифицированных биохимиков, отдающих все силы на благо Родины и передовой советской науки.

В ряде важнейших разделов биохимии работы советских ученых широко известны. Этому способствуют прежде всего те исключительно благоприятные условия, которые созданы для развития науки в нашей стране. В своем известном обращении к молодежи великий Павлов писал: «Наша родина открывает большие просторы перед учеными, и нужно отдать должное — науку щедро вводят в жизнь в нашей стране. До последней степени щедро! Что же говорить о положении молодого ученого у нас. Здесь ведь все ясно и так. Ему многое дается, но с него многое и спросится. И для молодежи, как и для нас, вопрос чести — оправдать те большие упования, которые возлагает на науку наша родина».

ЛИТЕРАТУРА

Биохимические осиовы техиологии пищевых производств. Труды V Междуиародиого биохимического коигресса, Симпозиум VIII. Изд. АН СССР, М., 1962.

Биохимия растеиий. Библиографический указатель отечествеииой литературы. 1738—1952; составители Н. С. Гельмаи и Г. Д. Зенкевич. Отв. редактор Н. М. Сисакяи. Изд. АН СССР, М., 1956.

Вернадский В. И. Биогеохимические очерки. Изд. АН СССР, М., 1940.

Возиикиовеиие жизии иа Земле. Сбориик докладов иа Междуиародиом совещании. Изд. АН СССР, М., 1957.

Збарский Б. И., Иванов И. И. и Мардашев С. Р. Биологическая химия. Медгиз, 3-е изд., М., 1960.
Кретович В. Л. Успехи и задачи биохимии в области пищевой промышленности. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 1, стр. 79, 1957.
Курсанов А. Л. Современная физиология растений и перспективы ее развития. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 2, стр. 181, 1961.
Опарин А. И. Возникновение жизни на Земле. Изд. АН СССР, М., 1957.
Опарин А. И. Бах А. Н. — основоположник советской энзимологии. Юбилейный сборник, посвященный тридцатилетию Великой Октябрьской социалистической революции, ч. 2-я, Изд. АН СССР, 1954.
Опарин А. И. и Сисакян Н. М. Растительная биохимия Советского Союза за тридцать лет. «Успехи соврем. биол.», т. 24, № 2 (5), стр. 219, 1947.
Павлов И. П. Полное собрание трудов, т. 2, М., 1946.
Палладин А. В. Учебник биологической химии. Медгиз, М., 1946.
Фердман Д. Л. Биохимия. Изд-во «Высшая школа», М., 1962.
Энгельгардт В. А. Некоторые проблемы современной биохимии. «Успехи химии», т. 28, вып. 9, 1959.
«Annual Review of Biochemistry», vol. 1—32, Stanford, 1932—1963.
«Annual Review of Plant Physiology», vol. 1—14, Stanford, 1950—1963.
Bonner J., Plant Biochemistry, Academic Press Inc., New York, 1950.
Davies D. D., Giovanelli J. a. Rees T., Plant Biochemistry. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1964.
Fruton J. S. a Simmonds S., General Biochemistry, J. Wiley, New York, 1958.
Javillier M., Polonovski M., Florkin M., Boulanger P., Lemoigne M., Roche J. et Wurmser R. Traité de Biochimie Générale. Tome I, Composition chimique des organismes, 1959. Tome 2. Les agents des syntheses et des degradation biochimiques, 1962, 1964. Masson et C-nie, Paris.
Karlson P., Kurzes Lehrbuch der Biochemie. G. Thieme V-g, Stuttgart, 1962.
Karrer W., Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe (exklusive Alkaloide). Birkhäuser V-g, Basel, 1958.

Практические руководства по биохимии растений

Ароиов С. Изотопные методы в биохимии. ИЛ, М., 1959.
Белозерский А. Н. и Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений. Изд-во «Советская наука», М., 1951.
Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Иконникова М. И. и Мурри И. К. Методы биохимического исследования растений. Сельхозгиз, М. — Л., 1952.
Умбрейт В. В., Буррис Р. Х. и Штауффер Д. Ф. Манометрические методы изучения тканевого обмена. ИЛ, М., 1951.
Brzeski W. i Kaniuga Z., Ćwiczenia z biochemii roślin. PWN, Warszawa, 1956.
Kleinzeller A., Malek J., Vrba R. Manometrické metody a jejich použiti v biologii a biochemii. SZN, Praha, 1954.
«Moderne Methoden der Pflanzenanalyse». Herausgegeben von K. Paech u. M. Tracey. Bände 1, 2, 3 u 4, Springer V-g, Berlin-Tubingen, 1955—1956.
Papierchromatographie in der Botanik. Herausgegeben von H. Linskens, Springer V-g, 1959.

Глава I.

БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА

«Белок — самое неустойчивое из всех известных нам соединений углерода. Он распадается, лишь только он теряет способность выполнять свойственные ему функции, которые мы называем жизнью, и в его природе заключается то, что эта неспособность, раньше или позже, наступает».

Ф. Энгельс

ОБЩИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ

Хотя белковые вещества содержатся обычно в растениях в меньшем количестве, чем углеводы, они играют в них огромную роль, поскольку белки составляют основную массу протоплазмы. Все ферменты являются белками. Белок имеет большое значение в питании человека и животных. Исключительно важная роль белков в жизни всего органического мира была в свое время сформулирована Энгельсом следующим образом: «*Жизнь есть способ существования белковых тел*, и этот способ существования состоит по своему существу в постоянном самообновлении химических составных частей этих тел... Повсюду, где мы встречаем жизнь, мы находим, что она связана с каким-либо белковым телом, и повсюду, где мы встречаем какое-либо белковое тело, которое не находится в процессе разложения, мы без исключения встречаем и явления жизни. Конечно, в живом организме необходимо должны быть также и другие химические соединения, которые и вызывают особые процессы дифференциации этих явлений жизни, но для жизни, в ее простейшей форме, они не необходимы, или же необходимы лишь постольку, поскольку они поступают в организм в виде пищи и превращаются в белки. Самые низшие живые существа, какие мы знаем, представляют собой не более как простые комочки белкового вещества, и они обнаруживают уже все существенные явления жиз-

ни»[1]. Огромный экспериментальный материал, накопленный в настоящее время биохимией, полностью подтверждает правильность приведенных выше гениальных положений, сформулированных в свое время Энгельсом. Мы можем с полным основанием утверждать, что биологическая химия является прежде всего биохимией белковых веществ.

Белковые вещества являются самыми сложными из всех соединений, содержащихся в организмах.

Белковые вещества по своему элементарному составу отличаются от углеводов: кроме углерода, водорода и кислорода, они всегда содержат азот и почти всегда серу; некоторые из них содержат также фосфор. Элементарный состав белковых веществ колеблется незначительно. Приводим для примера элементарный состав белков пшеничного зерна:

	%
Углерод	51,0 — 53,0
Азот	16,8 — 18,4
Водород	6,9
Кислород	21,7 — 23,0
Сера	0,7 — 1,3

У растений, произрастающих на почвах, богатых сёленом, этот последний может заменять в белках серу. Такие белки, содержащие вместо серы селен, найдены в пшенице и в некоторых видах астрагала.

Особенно большое количество белка содержится в некоторых семенах, особенно бобовых и масличных культур, например гороха, фасоли, подсолнечника. Из этих семян сравнительно легко можно получить препараты белков для изучения их химического состава и строения. Получение препаратов белковых веществ из вегетативных органов растений затруднительно, так как в них белки прочно связаны с углеводами и другими веществами, что затрудняет получение белков и их очистку. Получение препаратов белков основано на том, что они растворяются в воде, солевых растворах, водо-спиртовых растворах или в слабощелочных растворах. В зависимости от того, с помощью какого растворителя был экстрагирован белок из данного растительного материала (например, муки), раствор подвергают дальнейшей обработке для выделения белка: кипятят, насыщают солями, диализируют, отгоняют спирт или же нейтрализуют кислотой.

Белковые вещества представляют собой высокомолекулярные коллоиды. Их молекулярный вес может достигать нескольких миллионов. Однако, несмотря на такой большой молекулярный вес, многие белки получены в кристаллическом виде.

Белки дают целый ряд реакций, совокупность которых исполь-

[1] Ф. Энгельс, Анти-Дюринг. М., 1957, стр. 77.

зуется для их распознавания. Такова прежде всего способность белков свертываться при кипячении растворов и выпадать в виде сгустков, как это происходит, например, при кипячении водных растворов яичного белка.

Чрезвычайно характерным свойством белков является осаждение их из растворов под влиянием различных так называемых «белковых осадителей»: растворов таннина, уксуснокислого свинца, вольфрамата натрия, гидрата окиси меди, трихлоруксусной кислоты. Осадители широко применяются в лабораториях для очистки от белка экстрактов, получаемых из растительного материала.

Белки дают также целый ряд реакций окрашивания, которые обусловливаются наличием в белковой молекуле определенных химических группировок. Таковы, например, ксантопротеиновая, биуретовая, Миллонова реакция, реакция Адамкевича.

Ксантопротеиновая реакция заключается в том, что при обработке белка крепкой азотной кислотой появляется желтое окрашивание; эта реакция зависит от наличия в молекуле белка группировок, содержащих бензольные кольца.

Миллонова реакция заключается в появлении вишнево-красного окрашивания белка при действии Миллонова реактива — разбавленного водой раствора металлической ртути в азотной кислоте. Миллонова реакция зависит от наличия в молекуле белка фенольных группировок.

Биуретовая реакция — появление фиолетового или красно-фиолетового окрашивания при добавлении капли раствора медного купороса ($CuSO_4$) к щелочному раствору белка. Биуретовая реакция характерна для веществ, содержащих группировку:

$$\begin{array}{cc} -C- & N- \\ \| & | \\ O & H \end{array}$$

Реакция Адамкевича — появление фиолетового окрашивания при добавлении к раствору белка нескольких капель глиоксилевой кислоты и затем крепкой серной кислоты. Зависит от наличия в белковой молекуле индольных группировок. (Для реакции обычно употребляется крепкая уксусная кислота, содержащая следы глиоксилевой кислоты.)

ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ БЕЛКОВ

При кипячении с крепкими кислотами, щелочами, а также под действием ферментов белковые вещества распадаются на более простые соединения, образуя в конце концов смесь α-аминокислот. Подобное расщепление белка носит название «гидролиз».

Большая часть α-аминокислот представляет собой производные жирных кислот, в которых у α-углеродного атома один атом водорода замещен аминной группой — NH_2. Таким образом, общая формула α-аминокислот следующая:

$$R \cdot CH_2 \cdot COOH \quad \text{(α) жирная кислота} \qquad \underset{\displaystyle |\atop NH_2}{R \cdot CH \cdot COOH} \quad \text{аминокислота}$$

Аминокислоты, построенные подобным образом и принадлежащие к группе моноамино-монокарбоновых кислот, содержат как кислотную карбоксильную группу, так и щелочную аминную. В водных растворах карбоксильная группа отщепляет ионы водорода, и аминокислота функционирует как кислота:

$$\underset{\displaystyle |\atop NH_2}{R \cdot CH \cdot COO}\boxed{H}$$

Одновременно в водном растворе основные группы аминокислот являются источником гидроксильных ионов:

$$\underset{\displaystyle |\atop H_2N \cdot H_2O}{R - CH \cdot COOH} \rightleftarrows \underset{\displaystyle |\atop NH_3 \cdot \boxed{OH}}{R \cdot CH \cdot COOH}$$

Таким образом, поскольку аминокислоты являются одновременно кислотами и основаниями, они относятся к группе амфотерных электролитов и играют важную роль в качестве буферных веществ, поддерживающих в организме определенную концентрацию водородных ионов.

Моноамино-монокарбоновые аминокислоты представляют собой биполярные ионы (амфионы), которые изображаются следующим образом:

$$\overset{(+)}{N}H_3 \cdot R \cdot C\overset{(-)}{O}O$$

Обычно константы диссоциации карбоксильных групп не равны константам диссоциации основных групп; у многих аминокислот величины первых обычно больше вторых.

В соответствии со своей амфотерной природой аминокислоты могут, в зависимости от состава раствора, образовывать различные соли, реагируя как с кислотами, так и с основаниями:

$$\underset{\displaystyle |\atop NH_2 \ldots HCl}{R \cdot CH \cdot COOH} \quad \text{соответственно} \quad \underset{\displaystyle |\atop H_3N \cdot Cl}{R \cdot CH \cdot COOH} \qquad \underset{\displaystyle |\atop NH_2}{R \cdot CH \cdot COO \cdot Na}$$

солянокислая соль — натриевая соль

Необходимо подчеркнуть, что белки, состоящие из остатков α-аминокислот, содержат определенное количество свободных аминных и карбоксильных групп и потому, подобно аминокислотам, также являются амфотерными электролитами.

В настоящее время описано более 100 аминокислот, найденных в природе. Однако только лишь 22 аминокислоты являются составными частями белков.

Нужно отметить, что растения и микроорганизмы отличаются чрезвычайным разнообразием аминокислот, не входящих в состав белков, но содержащихся в клетках и тканях в свободном виде.

Общие свойства аминокислот

Благодаря наличию аминной группы аминокислоты могут реагировать с азотистой кислотой, образуя при этом соответствующую оксикислоту и газообразный азот:

$$R\cdot\overset{\displaystyle NH_2}{\overset{|}{C}H}\cdot COOH + HNO_2 \rightarrow R\cdot\overset{\displaystyle OH}{\overset{|}{C}H}\cdot COOH + N_2 + H_2O.$$

Эта реакция лежит в основе количественного метода определения аминокислот по Д. Ван-Сляйку. Весьма важной является также реакция взаимодействия аминной группы с формальдегидом. Эта реакция идет, по-видимому, следующим образом:

$$R\cdot\overset{\displaystyle NH_2}{\overset{|}{C}H}\cdot COOH + HCHO \rightarrow R\cdot\overset{\displaystyle N\cdot CH_2}{\overset{|}{C}H}\cdot COOH$$

или

$$R\cdot\overset{\displaystyle N(H)-CH_2OH}{\overset{|}{C}H}\cdot COOH + HCHO \rightarrow R\cdot\overset{\displaystyle N(CH_2OH)_2}{\overset{|}{C}H}\cdot COOH$$

Вследствие происходящего при этом связывания аминной группы она теряет свои основные свойства, а карбоксильная группа, наоборот, в полной мере проявляет свои кислотные свойства и может быть оттитрована щелочью. На этой реакции основан метод формольного титрования, применяемый для количественного определения аминокислот по С. П. Сёренсену.

Карбоксильная группа аминокислот может реагировать со спиртами, образуя сложные эфиры. Так, например, с этиловым спиртом реакция идет следующим образом:

$$R\cdot\overset{\displaystyle NH_2}{\overset{|}{C}H}\cdot COOH + HO\cdot C_2H_5 \rightarrow R\cdot\overset{\displaystyle NH_2}{\overset{|}{C}H}\cdot COO\cdot C_2H_5 + H_2O.$$

Эта реакция применяется для разделения и определения аминокислот путем фракционированной перегонки их эфиров в вакууме.

Все α-аминокислоты реагируют с нингидрином (трикетогидринденгидратом), причем характер образующихся продуктов реакции зависит от pH.

Почти все α-аминокислоты, реагируя с нингидрином при pH ниже 5, образуют аммиак, углекислый газ и соответствующий альдегид, содержащий на один углеродный атом меньше, чем исходная аминокислота:

$$\text{(нингидрин)}\ C(OH)_2 + R \cdot CH(NH_2) \cdot COOH \longrightarrow$$

амино кислота

нингидрин

$$\longrightarrow CHOH + RCHO + NH_3 + CO_2$$

При pH выше 5 реакция протекает с образоваиием окрашенного в сиий цвет соединения, углекислого газа и соответствующего аминокислоте альдегида:

$$2\ C(OH)_2 + R{-}CH(NH_2)COOH \longrightarrow$$

аминокислота

нингидрин

$$\longrightarrow CH{-}N{=}C \quad + CO_2 + RCHO$$

Иминокислоты — пролин и оксипролин — реагируют с нингидрином с образованием желтой окраски. Окрашенный продукт реакции представляет собою соединение одной молекулы иминокислоты и двух молекул нингидрина; при реакции, кроме того, образуются углекислый газ и вода.

Реакция с нингидрином применяется для идентификации и количественного определения свободных аминокислот по выделившемуся углекислому газу или же по интенсивности образующейся с нингидрином окраски.

Аминокислоты могут вступать в реакцию также с другими соединениями, содержащими карбонильную группу $= C = O$, например, с различными альдегидами и восстанавливающими сахарами.

В результате этой реакции происходит разложение как исходной аминокислоты, так и реагирующего с ней восстанавливающего сахара. При этом из аминокислоты образуются соответствующий альдегид, аммиак и углекислый газ, а из сахара — фурфурол или оксиметилфурфурол. Так, например, при реакции лейцина с ксилозой образуются:

$$\begin{matrix} CH_3 \searrow \\ CH \cdot CH_2 \cdot COH \\ CH_3 \nearrow \end{matrix}$$, аммиак, CO_2 и фурфурол.

изовалериановый альдегид

Альдегиды, образующиеся в результате взаимодействия аминокислот с восстанавливающими сахарами, обладают определенным запахом, от которого в значительной степени зависит аромат многих пищевых продуктов. С другой стороны, фурфурол и оксиметилфурфурол, образующиеся в результате разложения сахара, легко вступают в соединение с аминокислотами, давая темноокрашенные продукты, называемые меланоидинами. Образование меланоидинов является причиной потемнения многих пищевых продуктов во время их изготовления, сушки и хранения.

Особенно интенсивно реакция между аминокислотами и восстанавливающими сахарами происходит при повышенных температурах, имеющих место во время сушки различных пищевых продуктов: овощей, фруктов, молока, солода, во время выпечки хлеба и изготовления кондитерских изделий, во время упаривания сахарных растворов, при ферментации табака, «томлении» красного ржаного солода и самосогревании зерна, при обработке вина теплом. Установлено, что реакция образования меланоидинов может происходить также при взаимодействии восстанавливающих сахаров с белками.

Все аминокислоты, за исключением гликокола, оптически активны и содержат один (или более) асимметрический углеродный атом. Так, например, простейшая оптически активная аминокислота — аланин — существует в двух оптически активных формах — правовращающей, обозначаемой знаком « + », и левовращающей, обозначаемой знаком « — ». Одна из них, а именно встречающаяся в природе форма, в водных растворах вращает плоскость поляризации вправо. Эта форма аланина принадлежит к *l*-ряду, так как имеет строение, сходное со строением *l*(+)-молочной кислоты. Редко встречающаяся в природе левовращающая форма аланина принадлежит к *d*-ряду. Обе эти формы аланина обозначаются как *l*(+)-аланин и *d*(—)-аланин.

Они имеют следующее строение:

$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ NH_2—C—H \\ | \\ CH_3 \end{array} \qquad \begin{array}{c} COOH \\ | \\ H—C—NH_2 \\ | \\ CH_3 \end{array}$$

l(+)-аланин $\qquad$ *d*(—)-аланин

Если построить модели молекул *l*- и *d*-аланина, то они будут иметь вид, изображенный на рис. 1.

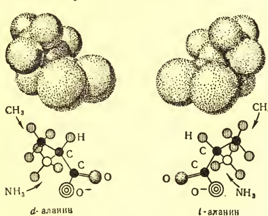


Рис. 1. Строение молекул *d*- и *l*-аланина.

Как известно, за исходное вещество, со строением которого принято сравнивать строение аминокислот, условно принимают *l*- и *d*-молочную кислоту, которая в свою очередь может быть сопоставлена с *l*- и *d*-формами глицеринового альдегида, принятого за единицу сравнения, когда речь идет об оптической изомерии (см. подробнее стр. 80).

Таким образом, буквы *d* или *l* обозначают принадлежность данной формы аминокислоты к *d*- или *l*-ряду, а « + » или « — » показывают знак оптической активности.

Все так называемые «натуральные» аминокислоты, входящие в состав белка, представляют собой *l*-формы; *d*-формы встречаются в природе сравнительно редко.

Так, например, *d*-фенилаланин входит в состав советского грамицидина — антибиотика, выделяемого бактерией *Bacillus brevis* (см. стр. 241).

d-пролин является составной частью алкалоидов спорыньи (см. стр. 223), а *d*-глютаминовая кислота, *d*-аспарагиновая кислота, *d*-аланин и *d*-фенилаланин обнаружены в сибиреязвенных

бациллах, в картофельной палочке (*Bacillus mesentericus*) и в других микроорганизмах. Рацемические *d-,l*-формы получаются при химических синтезах аминокислот.

Необходимо отметить, что до последнего времени для обозначения оптической изомерии аминокислот пользовались только буквами *d* или *l*, причем буква соответствовала знаку удельного вращения водного раствора аминокислоты. Однако уже на примере оптических изомеров аланина мы убедились в том, что принадлежность аминокислоты к *d*- или *l*-ряду может не соответствовать знаку оптической активности. Кроме того, оптическая активность аминокислот весьма сильно зависит от целого ряда факторов: природы растворителя, реакции среды, присутствия в растворе солей.

Так, например, *l*-гистидин в водном растворе обнаруживает удельное вращение $[\alpha]_D^{20} = -39{,}3°$, а в солянокислом растворе — $[\alpha]_D^{20} = +11{,}1°$.

Таким образом, наиболее правильным является обозначение, описанное выше для аланина, при котором указывается как принадлежность аминокислоты к *l*- или *d*-ряду, так и знак оптической активности.

В табл. 1 приведены применявшиеся ранее и современные обозначения аминокислот, входящих в состав белков. В этой таблице «+» или «—» указывают направление удельного вращения водного раствора данной аминокислоты.

В табл. 1 приведено также чаще всего применяемое в настоящее время обозначение натуральных аминокислот с помощью заглавной буквы L величиной со строчную. При подобном обозначении *l*(+)-аланин обозначается как L-аланин, а его оптический изомер — как D-аланин.

Многочисленными исследованиями установлено, что растительные и животные организмы по-разному относятся к L- и D-формам аминокислот. Так, например, показано, что плесневой гриб *Penicillium glaucum* использует L-формы глютаминовой кислоты и лейцина и оставляет нетронутыми D-формы этих аминокислот. Аналогичные различия в использовании оптических изомеров аминокислот установлены для дрожжей. Ярким примером различного физиологического действия оптических изомеров является действие D- и L-аспарагина на организм человека: в то время как природный L-аспарагин безвкусен, D-изомер обладает сладким вкусом.

Различия в физиологическом действии оптических изомеров аминокислот, а также других биологически важных соединений, несомненно, теснейшим образом связаны с важнейшими свойствами живого вещества.

В своих классических исследованиях, посвященных этой проблеме, Луи Пастер подчеркивал, что только живое вещество состоит из оптически деятельных органических соединений и синтезирует

Таблица 1

Обозначения натуральных аминокислот

Аминокислота	Ранее применявшееся обозначение	Современное обозначение
Аланин	*d*	*l* (+) или L
Аргинин	*d*	*l* (+) « L
Аспарагиновая кислота	*d*	*l* (+) « L
Валин	*d*	*l* (+) « L
Глютаминовая кислота	*d*	*l* (+) « L
Гистидин	*l*	*l* (—) « L
Изолейцин	*d*	*l* (+) « L
Лейцин	*l*	*l* (—) « L
Лизин	*d*	*l* (+) « L
Метионин	*l*	*l* (—) « L
Оксипролин	*l*	*l* (—) « L
Орнитин	*d*	*l* (+) « L
Пролин	*l*	*l* (—) « L
Серин	*l*	*l* (—) « L
Треонин*	*d*	*d* (—) « D
Триптофан	*l*	*l* (—) « L
Тирозин	*l*	*l* (—) « L
Фенилаланин	*l*	*l* (—) « L
Цистин	*l*	*l* (—) « L
Цистеин	*l*	*l* (—) « L

* Конфигурация β-углеродного атома треонина соответствует *d*-ряду.

такие соединения. Это свойство живого вещества неразрывно связано с асимметрическим строением белка и образующих его аминокислот. Поэтому асимметрия аминокислот и белков и ее изменения, происходящие во время развития организмов при различных условиях внешней среды, является одной из важнейших и интереснейших проблем биохимии.

Отдельные аминокислоты

Рассмотрим свойства и строение аминокислот. Все они в чистом виде представляют собою бесцветные, кристаллические вещества, большинство из которых растворимо в воде. Тирозин, норвалин и лейцин плохо растворимы в воде, а цистин практически нерастворим. Многие из них дают характерные соли, служащие для идентификации отдельных аминокислот.

Моноамино-монокарбоновые аминокислоты

Гликокол, или *глицин* (аминоуксусная кислота):

$$\begin{array}{c} HCH \cdot COOH \\ | \\ NH_2 \end{array}$$

Гликокол не содержит асимметрического углеродного атома и поэтому в растворах оптически недеятелен. Обладает сладким вкусом.

Температура плавления 240°C (с разложением).

L-*аланин* (α-аминопропионовая кислота):

$$\overset{\beta}{CH_3}-\overset{\alpha}{CH}(NH_2)-COOH$$

L-аланин чрезвычайно распространен в природе и является весьма важной аминокислотой, играющей большую роль в обмене веществ у растений и животных. Температура плавления 297°C (с разложением). Дает характерное соединение с β-нафталинсульфохлоридом. Наряду с α-аланином в природе найден также β-аланин, у которого аминная группа расположена в β-положении по отношению к карбоксилу.

В присутствии аспарагина или аспарагиновой кислоты α-аланин стимулирует рост дрожжей. β-аланин входит в состав витамина, называемого пантотеновой кислотой, и некоторых пептидов, содержащихся в свободном виде в мясе.



Пастер Луи
(1822—1895)

L-*валин* (α-аминоизовалериановая кислота):

$$(H_3C)_2>CH\cdot CH(NH_2)\cdot COOH$$

Содержится обычно в белках в небольшом количестве.

Валин принадлежит к числу так называемых «обязательных», или «незаменимых», аминокислот, которые не синтезируются в животном организме и организме человека и должны быть доставлены им в готовом виде с пищей.

Температура плавления валина 298°C (с разложением). Дает характерное соединение с фенилизоцианатом, имеющее температуру плавления 147°C.

L-*лейцин* (α-аминоизокапроновая кислота):

$$\begin{array}{l} H_3C \\ \quad \rangle CH-CH_2\cdot \underset{}{\overset{NH_2}{\overset{|}{C}H}}-COOH \\ H_3C \end{array}$$

Очень трудно растворим в холодной воде, легко из нее кристаллизуется в виде характерных перламутровых пластинок и листочков. Встречается во всех белках в довольно значительном количестве. Содержится в заметных количествах в проросшем зерне. Является источником образования сивушных масел при спиртовом брожении. Принадлежит к числу «обязательных» аминокислот.

Температура плавлеиия лейцинадля 295°С. Характерна плохо растворимая в воде медная соль голубоватого цвета.

L-*изолейцин* (α-амино-β-этил-β-метилпропионовая кислота):

$$\begin{array}{l} C_2H_5 \\ \quad \rangle \underset{\beta}{CH}\cdot \underset{\alpha}{\overset{NH_2}{\overset{|}{C}H}}\cdot COOH \\ CH_3 \end{array}$$

Содержится в белках в незначительных количествах Так же, как и лейцин, принадлежит к числу «обязательных» аминокислот; является источником образования сивушных масел при брожении.

Температура плавления изолейцина 280°С (с разложением).

L-*норлейцин* (α-амино-*н*-капроновая кислота):

$$CH_3\cdot(CH_2)_3\cdot \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}\cdot COOH$$

Норлейцин найден в гидролизатах животных белков.

L-*серин* (α-амино-β-оксипропионовая кислота):

$$\underset{\beta}{\overset{OH}{\overset{|}{CH_2}}}\cdot\underset{\alpha}{\overset{NH_2}{\overset{|}{CH}}}\cdot COOH$$

Является представителем группы оксиаминокислот. Дает характерное β-нитробензоильное производное. В некоторых белках, таких, как, например, казеин молока или вителлин яичного желтка, серин содержится в виде сложного эфира — так называемой серинфосфорной кислоты, которая, по-видимому, играет важную роль в обмене веществ молодого, растущего животного организма:

$$
\begin{array}{l}
\quad\;\; OH \\
\quad\;\; | \\
O{-}P{=}O \\
| \quad\;\; | \\
| \quad\; OH \\
CH_2 \cdot CH \cdot COOH \\
\qquad\;\; | \\
\qquad\; NH_2
\end{array}
$$

серинфосфорная кислота

В некоторых растениях, как, например, в горохе, в свободном виде содержится L-*гомосерин* (α-амино-γ-оксимасляная кислота), имеющий следующее строение:

$$
\begin{array}{l}
CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH \\
| \\
OH
\end{array}
$$

D-*треонин* (α-амино-β-оксимасляная кислота):

$$
\begin{array}{l}
\qquad\;\; \beta \qquad \alpha \\
CH_3 \cdot CH \cdot CH \cdot COOH \\
\qquad\;\; | \qquad | \\
\qquad OH \;\; NH_2
\end{array}
$$

Так же, как серин и гомосерин, треонин принадлежит к группе оксиаминокислот. Треонин — «незаменимая» аминокислота.

L-*цистеин* (α-амино-β-тиопропионовая кислота):

$$
\begin{array}{l}
CH_2{-}CH{-}COOH \\
| \qquad\; | \\
SH \quad NH_2
\end{array}
$$

Цистеин играет большую роль в обмене веществ в качестве источника серы и как восстанавливающий агент. Восстанавливающие свойства цистеина зависят от группы — SH, называемой сульфгидрильной группой. Цистеин в живой клетке очень легко превращается в диаминодитиодикарбоновую кислоту — *цистин*. С той же легкостью происходит обратный переход. Превращения эти происходят следующим образом:

$$
\begin{array}{lcl}
HS \cdot CH_2 \cdot CH\langle^{NH_2}_{COOH} & \underset{+2H}{\overset{-2H}{\rightleftarrows}} & S \cdot CH_2 \cdot CH\langle^{NH_2}_{COOH} \\
HS \cdot CH_2 \cdot CH\langle^{NH_2}_{COOH} & & S \cdot CH_2 \cdot CH\langle^{NH_2}_{COOH}
\end{array}
$$

2 молекулы цистеина — цистин

Группа $-S-S-$, содержащаяся в цистине, носит название дисульфидной группы. Из приведенного выше уравнения ясно, что взаимное превращение цистина и цистеина представляет собой окислительно-восстановительную реакцию, поскольку в одном случае отнимается водород и, следовательно, происходит окисление, а в другом случае водород присоединяется и имеет место реакция восстановления. Цистин в особенно большом количестве содержится в белках волос, рогов и копыт.

В капусте, турнепсе, цветной капусте и в некоторых других растениях из семейства крестоцветных найдено в свободном виде производное цистеина S-*метил-* L-*цистеин*, строение которого таково:

$$\begin{array}{l} CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH \\ | \\ S{-}CH_3 \end{array}$$

L-*метионин* (α-амино-γ-метилтиол-*н*-масляная кислота):

$$H_3C{-}S{-}CH_2 \cdot CH_2 \cdot \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} \cdot COOH$$

Играет в организме весьма важную роль в качестве источника (донатора) метильных групп. Метионин является «обязательной» аминокислотой.

L-*цистатионин*:

$$\begin{array}{ccc} CH_2{-}CH_2 & {-}S{-} & CH_2 \\ | & & | \\ NH_2 \cdot CH \cdot COOH & & NH_2{-}CH \cdot COOH \end{array}$$

Он выделен из мицелия плесневого гриба *Neurospora*; входит в состав некоторых антибиотиков. По-видимому, цистатионин является промежуточным продуктом при биосинтезе метионина.

L-*фенилаланин* (α-амино-β-фенилпропионовая кислота). От наличия фенилаланина в белковой молекуле зависит ксантопротеиновая реакция.

$$C_6H_5{-}\underset{H}{\overset{H}{C}}{-}C\begin{array}{l}{\scriptstyle NH_2}\\{\scriptstyle H}\\{\scriptstyle COOH}\end{array}$$

Дает характерное соединение с фенилизоцианатом $C_6H_5N{=}C{=}O$, плавящееся при 182° C. Температура плавления фенилаланина 283° C (с разложением).

Фенилаланин принадлежит к числу «обязательных» аминокислот.

L-*тирозин* (α-амино-β-оксифенилпропионовая кислота). Так же, как лейцин и глютаминовая кислота (см. далее), тирозин является одной из наиболее распространенных в природе аминокислот. От наличия тирозина в белках зависит Миллонова реакция. Поскольку тирозин представляет собой оксифенилаланин, он также дает ксантопротеиновую реакцию. Очень плохо растворяется в воде.

Температура плавления 314 — 318° С (с разложением):

$$
\begin{array}{l}
\qquad\qquad\qquad\quad NH_2 \\
\qquad\qquad\quad\;\; / \\
C—CH_2—CH \\
\qquad\qquad\quad\;\; \backslash \\
HC \quad CH \qquad COOH \\
HC \quad CH \\
\quad\; C \\
\quad\; | \\
\quad\; OH
\end{array}
$$

Тирозин легко подвергается окислению под действием фермента тирозиназы и дает при этом темноокрашенные вещества.

Моноаминодикарбоновые аминокислоты

L-*аспарагиновая кислота* (аминоянтарная):

$$
\begin{array}{c}
HOOC \cdot CH_2 \cdot \underset{\displaystyle \overset{|}{NH_2}}{CH} \cdot COOH
\end{array}
$$

Поскольку в аспарагиновой кислоте содержится одна аминная и две карбоксильные группы, в водных растворах она дает кислую реакцию. В воде растворяется плохо. Температура плавления 270° С. Содержится в больших количествах во всех растительных белках и играет важную роль в обмене веществ у растений и животных. Накапливается в больших количествах в этиолированных (выросших в темноте) ростках бобовых растений в виде своего моноамида — *аспарагина*:

$$
(H_2N) \cdot OC \cdot CH_2 \cdot \underset{\displaystyle \overset{|}{NH_2}}{CH} \cdot COOH
$$

L-*глютаминовая кислота* (α-аминоглютаровая):

$$\mathrm{HOOC \cdot \overset{\gamma}{C}H_2 \cdot \overset{\beta}{C}H_2 \cdot \overset{\alpha}{C}H(NH_2) \cdot COOH}$$

Содержится в белках растений и дрожжей в очень больших количествах. Температура плавления 206° С (с разложением). Так же, как и аспарагиновая кислота, дает кислую реакцию в водных растворах и играет важнейшую роль в обмене веществ. В КНР, Японии и в США производят значительные количества мононатриевой соли глютаминовой кислоты, являющейся вкусовой приправой, обладающей вкусом и запахом куриного бульона. Глютаминовая кислота в заметных количествах содержится в ростках некоторых растений и в корне сахарной свеклы в виде своего моноамида — *глютамина*:

$$\mathrm{(H_2N)OC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH}$$

Аспарагин и глютамин, являясь антикристаллизаторами в сахарном производстве, понижают выход сахара.

В растениях в свободном виде найдено оксипроизводное глютаминовой кислоты — γ-*оксиглютаминовая кислота*.

В молодых растениях земляного ореха (*Arachis hypogaea*) и в плодах красного перца найдена γ-*метиленглютаминовая кислота* $\mathrm{HOOC \cdot CH(NH_2) \cdot CH_2 \cdot C \cdot (=CH_2)COOH}$ и соответствующий ей амид— γ-*метиленглютамин* $\mathrm{HOOC \cdot CH(NH_2) \cdot CH_2C{=}(CH_2)CONH_2}$.

L-*α-аминоадипиновая кислота*:

$$\mathrm{HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH.}$$

Эта аминокислота входит в состав водорастворимого белка зерна кукурузы.

Диаминомонокарбоновые аминокислоты

L-*аргинин* (α-амино-δ-гуанидил-*н*-валериановая кислота):

$$\mathrm{H_2N{-}C({=}NH){-}HN{-}\underset{\delta}{C}H_2 \cdot \underset{\gamma}{C}H_2 \cdot \underset{\beta}{C}H_2 \cdot \underset{\alpha}{C}H(NH_2) \cdot COOH}$$

Температура плавления 207°С. Аргинин дает характерное нерастворимое соединение с флавиановой кислотой (2,4-динитро-7-сульфокислота α-нафтола).

Вследствие наличия двух аминных групп аргинин является основанием и вместе с лизином и гистидином (см. далее) принадлежит к группе основных аминокислот. Вследствие того, что эти три аминокислоты содержат в своих молекулах по 6 углеродных атомов, их называют также гексоновыми основаниями. Аргинин содержится в очень большом количестве в некоторых белках животного происхождения (белки рыбьих молóк) и накапливается в прорастающих семенах хвойных растений. Он играет чрезвычайно большую роль в белковом обмене, являясь важным промежуточным продуктом при синтезе мочевины. Под действием фермента аргиназы L-аргинин распадается на мочевину:

$$C(=O)(NH_2)_2$$

и аминокислоту L-*орнитин*:

$$H_2N \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH.$$

У ряда растений (*Corydalis ochotensis*, папоротник *Asplenium nidus*, некоторые луговые травы из семейства злаковых) найдено ацетильное производное орнитина δ-N-*ацетилорнитин* $(CH_3CO \cdot NH) \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$.

В животном и растительном организме найдена аминокислота L-*цитруллин*:

$$\begin{array}{l} NH_2 \\ | \\ C{=}O \qquad\qquad\qquad\quad NH_2 \\ | \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ HN{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2 \cdot CH{-}COOH \end{array}$$

Цитруллин найден в соке плодов арбуза (*Citrullus*), откуда он и получил свое название, в корневых клубеньках ольхи и в пасоке некоторых деревьев (береза и др.).

В семенах сои и канавалии содержится аминокислота канаванин, представляющая собою оксигуанидиновое производное аргинина:

$$\begin{array}{l} NH_2 \\ | \\ C{=}NH \qquad\qquad\quad NH_2 \\ | \qquad\qquad\qquad\qquad | \\ NH{-}O \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot COOH \end{array}$$

Канаванин найден в семенах многих бобовых растений. Он, видимо, играет какую-то важную роль в обмене прорастающих семян, так как при прорастании последних содержание его резко падает.

L-*лизин* (α, ε-диаминокапроновая кислота):

$$\begin{array}{l} NH_2 \qquad\qquad\qquad\qquad\quad NH_2 \\ | \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad | \\ \underset{\varepsilon}{CH_2} \cdot \underset{\delta}{CH_2} \cdot \underset{\gamma}{CH_2} \cdot \underset{\beta}{CH_2} \cdot \underset{\alpha}{CH} \cdot COOH \end{array}$$

Лизин так же, как и аргинин, в водных растворах дает щелочную реакцию. Содержится почти во всех белках. Особенно велико содержание его в белках рыбьих моло́к.

Лизин является «обязательной» аминокислотой.

С пикриновой кислотой лизин дает великолепно кристаллизующееся производное, разлагающееся при 252° С.

Среди продуктов гидролиза желатины обнаружено оксипроизводное лизина — *оксилизин*:

$$\underset{CH_2}{\overset{NH_2}{|}} \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot \underset{CH}{\overset{NH_2}{|}} \cdot COOH$$

Диаминодикарбоновые аминокислоты

К подобным аминокислотам относится L-α-, ε-*диаминопимелиновая кислота*:

$$HOOC \cdot \underset{\varepsilon}{CH}(NH_2) \cdot \underset{\delta}{CH_2} \cdot \underset{\gamma}{CH_2} \cdot \underset{\beta}{CH_2} \cdot \underset{\alpha}{CH}(NH_2) \cdot COOH$$

Эта аминокислота найдена в белках, входящих в состав дифтерийной бактерии, кишечной палочки (*Escherichia coli*) и ряда других микроорганизмов.

Гетероциклические аминокислоты

L-*пролин* (пирролидин-α-карбоновая кислота):

$$\begin{array}{ccc} H_2C & — & CH_2 \\ | & & | \\ H_2C & & C—COOH \\ & \diagdown \diagup \diagdown & \\ & NH \;\; H & \end{array}$$

Пролин, в сущности говоря, не является аминокислотой, так как содержит иминную группу = NH. Особенно велико содержание пролина в белках семян. Производным L-пролина является L-*оксипролин*, содержащийся в заметном количестве в желатине и найденный в белках некоторых растений.

Строение оксипролина таково:

$$\begin{array}{ccc} HO \cdot HC & — & CH_2 \\ | & & | \\ H_2C & & CH \cdot COOH \\ & \diagdown \diagup & \\ & NH & \end{array}$$

Пролин и оксипролии дают характерные нерастворимые соединеиия с так называемой солью Рейнеке $NH_4[Cr(CNS)_4(NH_3)_2]$.

L-*пипеколиновая кислота*. Во многих продуктах растительного происхождения (в ячмене, хмеле, картофеле, яблоках, бобах фасоли и в некоторых грибах) в свободном виде найдена иминокислота, называемая L-пипеколиновой кислотой $C_6H_{11}O_2N$.

Она имеет строение:

```
          CH2
        /     \
    H2C         CH2
     |           |
    H2C         CH · COOH
        \     /
          NH
```

Пипеколиновая кислота образуется в растениях из лизина.

Ее температура плавления 270° С, а удельное вращение водиого раствора $[\alpha]_D^{20} = -25{,}7°$.

L-*триптофан* (α-амино-β-индолилпропионовая кислота):

```
      CH
    //   \
  HC       C ——— C — CH2 — CH — COOH
   |       ||    ||         |
   |       ||    ||         NH2
  HC       C     CH
    \\   /   \  /
      CH      NH
```

От наличия триптофаиа в белках зависит реакция Адамкевича. Ои дает также ксантопротеиновую реакцию. Кристаллизуется в виде плохо растворяющихся в воде пластиночек с температурой плавления 289° С.

Триптофан не синтезируется в животном организме. Триптофан имеет большое значение в обмене веществ и тесно связан с образованием в организме витамина РР, отсутствие которого в пище приводит к заболеванию человека пеллагрой.

L-*гистидин* (α-амино-β-имидазолилпропионовая кислота):

```
  HC ══ C — CH2 · CHNH2COOH
  |     |
  N     NH
   \\  /
    CH
```

Гистидин принадлежит к группе основных аминокислот и в водных растворах дает щелочную реакцию. Заметное количество

гистидина содержится в белке глобине, входящем в состав гемоглобина крови.

С соляной кислотой гистидин дает гидрохлорид, кристаллизующийся в виде бесцветных призм с температурой плавления 251—252° С.

Кроме α- и β-аминокислот, в природе найдена также γ-аминокислота, а именно *γ-аминомасляная кислота* — $CH_2(NH_2)\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot COOH$. Эта аминокислота обнаружена в свободном виде в очень многих растениях: корнях столовой свеклы (0,016%), в незрелых яблоках, дрожжах, в зеленых побегах и колосьях злаков, в листьях табака, в одноклеточной водоросли *Chlorella*.

Аминокислотный состав белков и реакционная способность белковой молекулы

Отдельные белки различаются между собой по аминокислотному составу, т. е. по количеству образующихся из них при гидролизе аминокислот. Гидролиз белков может быть произведен, как мы уже упоминали, путем кипячения с крепкими кислотами, щелочами или же путем воздействия на белки протеолитических ферментов, подобных пепсину желудочного сока.

Для определения аминокислот в полученном таким образом гидролизате применяются многочисленные методы, описанные в специальных руководствах, указанных в списке литературы, приведенном в конце данной главы. Важно отметить, что за последние годы при качественном и количественном определении аминокислот особенно широко используется метод хроматографии (см. стр. 133).

В табл. 2 приведены данные об аминокислотном составе некоторых наиболее хорошо изученных белков.

Нужно отметить, что аминокислотный состав белков может подвергаться довольно заметным колебаниям. Эти изменения в содержании отдельных аминокислот происходят, например, в процессе развития организма, а также под влиянием изменяющихся условий среды (см. стр. 539).

Из данных, приведенных в табл. 2, видно, что для некоторых белков, как, например, для β-лактоглобулина молока, сумма аминокислот превышает 100%. Для других белков, например для желатины, сумма определенных в этих белках аминокислот значительно меньше 100%. В первом случае расхождение веса суммы аминокислот с первоначальным весом белка объясняется присоединением к гидролизуемому белку элементов воды, за счет которой и получается величина, превышающая 100%.

Недостача аминокислот в случае желатины объясняется неполнотой наших сведений об аминокислотном составе этого белка.

Из табл. 2 вместе с тем видно, что некоторые аминокислоты полностью отсутствуют в данном белке. Так, например, зеин кукурузы совершенно не содержит лизина и гликокола, триптофана в нем

также практически нет. В желатине отсутствуют тирозин и триптофан. Это обстоятельство имеет существенное значение. Зеленые растения могут синтезировать все аминокислоты. Некоторые же аминокислоты не могут синтезироваться в животном организме и в организме человека. Мы уже указывали, что такие аминокислоты получили название «обязательных», или «незаменимых». В настоящее время установлено, что для человека незаменимыми являются 8 аминокислот: триптофан, фенилаланин, метионин, лизин, валин, треонин, изолейцин и лейцин. Питание белком, не содержащим какой-либо из «незаменимых» аминокислот, приводит к нарушениям обмена веществ и, в конце



Данилевский
Александр Яковлевич
(1838—1923)

Таблица 2

Аминокислотный состав белков в %

Аминокислота	Белок						
	эдестин конопли	желатина	зеин кукурузы	β-лакто-глобулин молока	казеин молока	глиадин пшеницы	кукурбитин из семян тыквы
Гликокол	—	27,0	0	1,4	1,9	1,0	5,5
Аланин	4,3	9,0	9,8	7,4	3,5	2,5	5,7
Валин	5,7	1,2	1,9	5,8	7,2	3,0	5,6
Лейцин и изолейцин	{4,7 7,5	3,9	25,0	21,7	17,9	6,0	13,3
Фенилаланин	5,5	1,0	7,6	3,5	5,5	2,5	8,3
Пролин	4,3	9,7	9,0	4,1	11,6	13,2	5,4
Оксипролин	—	8,4	0,8	—	0,2	—	—
Метионин	2,4	0,3	2,4	3,2	3,1	2,3	2,5
Цистин	0,9	0,2	0,9	2,3	0,3	2,3	0,8
Серин	6,3	3,3	1,0	5,0	5,9	0,1	5,7
Треонин	3,9	1,4	—	5,9	4,5	3,0	3,0
Тирозин	4,3	0	5,9	3,8	6,1	3,1	3,7
Триптофан	1,5	0	0,2	1,9	1,2	0,9	—
Аспарагиновая кислота	12,0	3,4	1,8	11,4	7,2	1,4	6,8
Глютаминовая кислота	20,7	5,8	31,3	19,5	22,0	46,0	24,2
Аргинин	16,7	8,7	1,6	2,9	4,0	3,2	15,2
Гистидин	2,9	2,9	0,8	1,6	3,2	2,1	—
Лизин	2,4	5,9	0	11,4	8,2	0,6	4,0

концов, к заболеванию. Таким образом, отдельные белки могут быть неполноценными по своему аминокислотному составу.

Однако необходимо исследовать аминокислотный состав не отдельных белков, а всего их комплекса, содержащегося в данном пищевом продукте. Только при таком подходе могут быть получены правильные данные об аминокислотном составе, а следовательно, и о пищевой ценности этого продукта.

Каким же образом связаны между собой отдельные аминокислоты в молекуле белка? Выдающимся русским биохимиком А. Я. Данилевским впервые было высказано предположение, что соединение отдельных аминокислот в молекуле белка осуществляется при помощи так называемой пептидной связи таким образом, что аминная группа одной аминокислоты соединяется с карбоксильной группой другой. Так, например, в случае образования пептидной связи между двумя молекулами аланина реакция произойдет следующим образом:

$$\begin{array}{l} HOOC \cdot HC{-}CH_3 \\ \quad\quad | \\ \quad\quad HN\,\boxed{H + HO}\,OC \cdot HC{-}CH_3 \;= \\ \quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad | \\ \quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad NH_2 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} HOOC \cdot HC{-}CH_3 \\ \quad\quad | \\ \quad\quad HN \cdot OC \cdot HC \cdot CH_3 + H_2O \\ \quad\quad\quad\quad\quad\quad | \\ \quad\quad\quad\quad\quad H_2N \end{array}$$

Образовавшееся соединение, являющееся результатом взаимодействия двух молекул аминокислот (в данном случае аланина), носит название дипептид, а связь... HN — CO... — пептидная связь. Образовавшийся в данном случае дипептид называется аланилаланин. При этом в названии аминокислоты, карбоксил которой участвует в образовании пептидной связи, буква *н* на конце слова изменяется на *л*.

Если дипептид будет образован из гликокола и аланина, то мы получим либо глицилаланин:

$$\begin{array}{l} CH_2NH_2CO{-}NH \\ \quad\quad\quad\quad\quad | \\ \quad\quad CH_3{-}CH{-}COOH, \end{array}$$

либо аланилглицин:

$$\begin{array}{l} CH_3{-}CH{-}CO \cdot HN{-}CH_2 \\ \quad\quad | \quad\quad\quad\quad\quad | \\ \quad\quad NH_2 \quad\quad\quad COOH \end{array}$$

Эти два дипептида различаются между собой по своим физическим и химическим свойствам. Свободная карбоксильная группа дипептида может далее соединиться с аминной группой еще одной молекулы какой-либо аминокислоты, и в результате мы получим трипептид. Так, например, из глицилаланина и лейцина мы можем получить глицилаланиллейцин, а из аланилглицина и лейцина, соответственно, аланилглициллейцин. Совершенно ясно, однако, что из трех аминокислот мы можем получить не только эти, но и другие трипептиды. Действительно, аминокислоты А, Б и В могут образовать следующие 6 трипептидов:

А—Б—В, А—В—Б, Б—А—В, Б—В—А, В—А—Б и В—Б—А.

В случае соединения пептидными связями четырех остатков аминокислот получается тетрапептид, пяти — пентапептид и т. д. Общее название всех таких соединений нескольких аминокислот — полипептиды.

Из четырех различных аминокислот можно получить 24 различных тетрапептида, из пяти — 120 пентапептидов. Таким образом, ясно, что природные аминокислоты, соединяясь друг с другом пептидной связью, могут образовать огромное число изомеров.

Вместе с тем, если учесть то обстоятельство, что пептидная связь может подвергаться енолизации, то мы должны принять, что количество возможных изомеров полипептидов должно быть еще большим. Действительно, например, такой дипептид, как сериларанин, может существовать в виде карбонильной и в виде енольной форм:

$$CH_2(OH) \cdot CH(NH_2) \cdot CO—NH \cdot CH(COOH) \cdot CH_3$$

или соответственно

$$CH_2(OH) \cdot CH(NH_3^{+}) \cdot CO—NH \cdot CH(COO^{-}) \cdot CH_3$$

карбонильная форма сериларанина

$$CH_2(OH)—CH(NH_2) \cdot C(OH)=N \cdot CH(COOH) \cdot CH_3$$

или соответственно

$$CH_2(OH) \cdot CH(NH_3^{+}) \cdot C(OH)=N \cdot CH(COO^{-}) \cdot CH_3$$

енольная форма сериларанина

Енольную форму можно представить себе также в следующем виде:

$$\ldots\ C(NH_2)=C(OH)—NH\ \ldots$$

Как можно видеть, енолизация пептидной связи значительно расширяет скрытые в ней реакционные возможности.

В настоящее время синтезировано большое количество различных полипептидов. Получаемые синтетически полипептиды обладают многими свойствами, характерными для белков. Синтетические полипептиды расщепляются (гидролизуются) на составляющие их аминокислоты ферментами пищеварительного тракта человека

и животных. Установлено, что при осторожном кислотном, щелочном или ферментативном гидролизе белков можно получить целый ряд полипептидов.

Так, например, при переваривании содержащегося в шелке белка фиброина ферментами кишечника образуются следующие полипептиды: аланилглицин, глицилаланин, аланилглицилтирозин, глицилаланилглицилтирозин, серилпролилтирозилпролин, глицилсерилпролилтирозилпролин, тирозилсерилпролилтирозин, лейцилтриптофан, глицилфенилаланин. Среди продуктов ферментативного расщепления пшеничного белка — глиадина и белка молока — казеина найдена лейцилглютаминовая кислота.

Некоторые из полипептидов встречаются в свободном виде в растениях, тканях животных и микроорганизмах и имеют большое значение в качестве промежуточных продуктов обмена веществ и физиологически весьма активных соединений. Таков, например, открытый выдающимся английским биохимиком Ф. Гопкинсом трипептид *глютатион*, состоящий из остатков гликокола, цистеина и глютаминовой кислоты:

$$\begin{array}{llllllllll}
 & & & & & & & O & H & \\
 & & & & & & & \| & | & \\
HOOC & \cdot CH & \cdot CH_2 & \cdot CH_2 & \cdot C & —N & \cdot CH & \cdot C & —N & \cdot CH_2 \cdot COOH \\
 & | & & & \| & | & | & & & \\
 & NH_2 & & & O & H & CH_2 \cdot SH & & &
\end{array}$$

Глютатион содержится во всех живых клетках. Его содержание особенно высоко в зародыше пшеничного зерна и дрожжах. Чрезвычайно важная роль глютатиона в обмене веществ заключается в том, что он является сильным восстановителем и очень легко подвергается окислению, подобно цистеину. При этом, так же как и в цистеине, окисляется сульфгидрильная группа —SH (отнимается водород) и две молекулы восстановленного SH-глютатиона соединяются дисульфидной связью —S—S—, образуя молекулу окисленного —S—S— глютатиона:

$$\begin{array}{llllllllll}
HOOC & \cdot CH & \cdot CH_2 & \cdot CH_2 & \cdot C & —N & \cdot CH & \cdot C & —N & \cdot CH_2 \cdot COOH \\
 & | & & & \| & | & | & \| & | & \\
 & NH_2 & & & O & H & CH_2 & O & H & \\
 & & & & & & | & & & \\
 & & & & & & S & & & \\
 & & & & & & | & & & \\
 & & & & & & S & & & \\
 & & & & & & | & & & \\
 & & & & & & CH_2 & & & \\
 & & & & & & | & & & \\
HOOC & \cdot CH & \cdot CH_2 & \cdot CH_2 & \cdot C & —N & \cdot CH & \cdot C & —N & \cdot CH_2 \cdot COOH \\
 & | & & & \| & | & & \| & | & \\
 & NH_2 & & & O & H & & O & H &
\end{array}$$

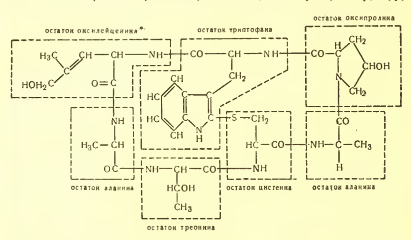
Взаимопревращения окисленной и восстановленной формы глютатиона катализируются в организме особым ферментом. Глютатион оказывает большое влияние на активность многих ферментов, особенно тех, действие которых связано с превращениями белков.


Гопкинс Фредерик
(1861—1947)

Важнейшие катализаторы процесса дыхания — так называемые цитохромы (см. стр.314) — также содержат в своем составе полипептиды.

К числу полипептидов принадлежит целый ряд антибиотиков — образуемых микроорганизмами веществ, убивающих других микроорганизмов или угнетающих их рост. Таковы, например, советский грамицидин, тироцидин, лихениформин (см. стр. 236 и след.). Некоторые из этих антибиотиков широко применяются в медицине для борьбы с болезнетворными микробами.

Весьма интересным и важным является то, что многие физиологически чрезвычайно активные полипептиды являются циклопептидами, т. е. имеют циклическое строение. Такими циклопептидами являются только что упомянутые антибиотики — грамицидин, тироцидин и лихениформин, гормоны *окситоцин* и *вазопрессин*, выделяемые мозговым придатком (гипофизом), а также *фаллоидин* — чрезвычайно ядовитое соединение, содержащееся в бледной поганке (*Amanita phalloides*) и имеющее следующую структуру:



* Оксилейценин образуется при окислении (дегидрогенизации) лейцина.

Таким образом, целый ряд фактов указывает на правильность предположения о том, что в состав белковой молекулы входят полипептидные звенья. Общепринятая теория строения белка, основанная на этих фактах и разработанная Эмилем Фишером, получила название полипептидной теории.

В белках пептидные связи не являются единственными формами соединения между собой отдельных аминокислотных остатков и более крупных звеньев. Установлено наличие в белковой молекуле также дисульфидных связей — S — S —, соединяющих между собой отдельные пептидные цепи подобно тому, как они соединяют две полипептидные цепочки в молекуле окисленного глютатиона.

Так, например, благодаря работам английского биохимика Ф. Сенгера установлено, что молекула инсулина — гормона белковой природы, выделяемого поджелудочной железой и регулирующего углеводный обмен в животном организме, имеет структуру, представленную на рис. 2.

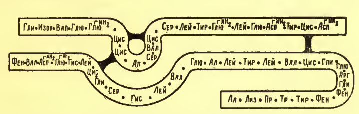


Рис. 2. Структура молекулы инсулина крупного рогатого скота:

обозначения аминокислотных остатков: Гли — глицин, Изол — изолейцин, Вал — валин, Глю — глютаминовая кислота, Глю-NH_2 — глютамин, Цис — цистеин, Ал — аланин, Сер — серин, Лей — лейцин, Тир — тирозин, Асп-NH_2 — аспарагин, Лиз — лизин, Пр — пролин, Тр — треонин, Фен — фенилаланин, Арг — аргинин, Гис — гистидин

Таким образом, в молекуле инсулина, имеющего молекулярный вес 5733, две полипептидные цепи, состоящие из остатков 21 и 30 аминокислот, связаны между собою двумя дисульфидными связями. Необходимо отметить, что расщепление дисульфидных связей приводит к полной потере инсулином его физиологической активности.

Выяснение структуры инсулина и его синтез, осуществленный в 1963 г., являются выдающимися достижениями науки и важными доказательствами справедливости полипептидной теории строения белка.

По-видимому, в строении белковой молекулы существенную роль играют также гидроксильные группы серина и других оксиаминокислот. Эти группы могут вступать во взаимодействие, например, с карбоксильными группами, образуя в молекуле белка сложноэфирные связи. Установлено также, что пептидные цепи могут соединяться между собой солевыми и так называемыми водородными связями, значительно более слабыми, чем другие связи, имеющиеся в молекуле белка, — пептидные, дисульфидные и сложноэфирные. В приведенной на стр. 49 формуле водородные связи изображены пунктиром.

```
 O       H       H       O       H       H
 ‖  R    |       |       ‖  R    |       |
 C       N       C       C       N       C
/ \C/  \C/|\N/  \C/  \C/|\
   |     ‖  R    |       |       ‖  R
   H     O       H       H       O
         :       :               :
   H     H       O       H       H
   |     |  R    ‖       |       |  R
   C     N       C       C       N
\N/ \C/  \C/  \N/ \C/  \C/
 |  R    ‖       |       |  R    ‖       |
 H       O       H       H       O       H
```

Таким образом, благодаря наличию в отдельных аминокислотных остатках и более крупных звеньях белковой молекулы различных групп, вступающих между собой во взаимодействие, в молекуле белка образуются связи различных типов. Вместе с тем наличие в белковой молекуле самых различных свободных групп и радикалов — аминных, карбоксильных, гидроксильных, сульфгидрильных, сульфидных, имидазольных и других — обусловливает огромное многообразие реакционных возможностей как отдельных структурных элементов белка, так и всей белковой молекулы в целом.

Важные результаты, дающие представление о порядке расположения аминокислотных остатков в полипептидных цепях белковой молекулы, были получены за последние годы с помощью методов, позволяющих определить аминокислоты, расположенные на концах полипептидных цепей. Так, например, N-концевые аминокислоты, т. е. те аминокислоты, которые содержат свободную аминную группу, могут быть определены по методу Сенгера. Этот метод заключается в том, что исследуемый белок или полипептид обрабатывают 2,4-динитрофторбензолом, в результате чего аминокислоты, содержащие свободную аминную группу, образуют стойкие динитрофенильные производные. При последующем гидролизе белка кислотой эти динитрофенильные производные не гидролизуются и могут быть определены с помощью метода распределительной хроматографии на бумаге (см. стр. 134). Среди ряда методов, применяемых для определения N-концевых аминокислот в белках и пептидах, метод Сенгера оказался особенно ценным.

Существуют также различные методы определения С-концевых аминокислот, т. е. тех аминокислот, остатки которых, будучи расположены на концах полипептидных цепей, содержат свободную карбоксильную группу. Одним из широко применяемых методов определения С-концевых аминокислот в белках и пептидах является метод, предложенный Ш. Акабори. Он заключается в том, что белок или пептид обрабатывают гидразином $H_2N - NH_2$, с которым реагируют аминокислоты, аминные группы которых участвуют в образовании пептидных связей. При последующей обработке бензальдегидом все эти аминокислоты превращаются в соответствующие шиффовы основания, а С-концевые аминокислоты остаются в растворе в свободном виде и могут быть легко отделены и идентифицированы. Для определения С-концевых аминокислот широко применяют также карбоксипептидазу — фермент, отщепляющий от белка аминокислоты, имеющие свободные карбоксильные группы.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ

В результате исследований, проведенных с помощью различных физических и физико-химических методов (рентгенография, изучение вязкости белковых растворов и др.), в настоящее время установлено, что отдельные белки различаются не только по аминокислотному составу, но также и по форме молекулы. Все белки по этому признаку разделяют на фибриллярные (нитевидные) и глобулярные (шаровидные). К первой группе принадлежат такие белки, как, например, кератин, содержащийся в волосах, рогах и копытах животных, фиброин шелка, миозин мускулов, фибриноген крови. Ко второй группе — глобулярных белков — принадлежит подавляющее большинство белков, содержащихся в растениях и животных.

Глобулярные белки отличаются от фибриллярных белков тем, что их молекулы (глобулы) по своей форме приближаются к шару, или эллипсоиду вращения. Однако нужно подчеркнуть, что сами глобулярные белки различаются между собой по форме молекулы (глобулы). Одни из них имеют шарообразную форму, другие — форму сигары, третьи — форму эллипсоида вращения.

Форму белковой молекулы у глобулярных белков выражают отношением длины большой оси молекулы к малой оси $\frac{б}{а}$. Ниже приведены эти отношения для ряда белков и некоторых ферментов, полученных в виде белковых кристаллов:

Белок	*Отношение* $\frac{б}{а}$
Спирторастворимый белок (зеин) кукурузы . . .	20,1
Спирторастворимый белок (глиадин) пшеницы . .	11,1
Фермент каталаза	5,8
Белок из семян конопли (эдестин)	4,3
Фермент уреаза	4,3

Таким образом, мы видим, что молекулы некоторых из глобулярных белков, например зеина, по своей форме напоминают иглы или короткие нити. Более того, в настоящее время установлено, что глобулярные белки могут превращаться в фибриллярную форму. Это может происходить при так называемой денатурации, которая сопровождается потерей растворимости и вызывается нагреванием белков, действием излучений или некоторых реактивов (спирта, щелочей и кислот). При этом полипептидные цепочки белковой глобулы, расположенные в пространстве строго определенным образом, превращаются в запутанный клубок полипептидных цепочек. С другой стороны, в настоящее время показано, что типично фибриллярные белки путем определенных воздействий могут быть превращены в глобулярные. Так, например, удалось

получить в глобулярном состоянии фиброин шелка и кератин куриного пера. Строение фибриллярного и глобулярного белка, а также превращение последнего при денатурации в фибриллярную форму схематически показано на рис. 3.

Из всего изложенного ясно, что молекулярный вес белков должен быть очень большим.

Обычные методы определения молекулярного веса органических соединений неприменимы к белкам. Поэтому молекулярные веса белков определяют с помощью специальных методов. Одним из наиболее важных является метод, предложенный в 1913 г.

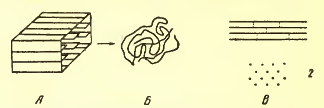


Рис. 3. Схема строения глобулярных и фибриллярных белков. *А* — глобулярный белок; *Б* — денатурированный глобулярный белок; *В*—фибриллярный белок: *1* — сбоку; *2* — в разрезе

А. В. Думанским и разработанный затем Т. Сведбергом. Данный метод основан на применении ультрацентрифуги. В этом приборе, делающем до 100 000 оборотов в минуту (скорость движения равна скорости пули), можно в сотни тысяч раз увеличить силу тяжести (до 500 000) и заставить молекулы белка (глобулы) оседать в растворе. Определив таким образом скорость их оседания (скорость седиментации), можно вычислить молекулярный вес белка.

Второй весьма важный метод основан на определении скорости диффузии молекул белка в растворителе и измерении вязкости раствора. Широкое применение при определении молекулярных весов белков получил также анализ с помощью рентгеновских лучей. По отношению к ряду растворимых белков, которые могут быть достаточно хорошо очищены от различных примесей, производят также определение молекулярных весов на основе измерения осмотического давления белковых растворов. Нужно отметить, что различные методы дают близкие результаты. Так, например, определение различными методами молекулярного веса одного из белков молока — β-лактоглобулина — дало следующие результаты:

Принцип метода	*Молекулярный вес*
Диффузия	38000
Скорость седиментации	41500
Рентгеновский анализ	33000 — 35000
Осмотическое давление	35050

Молекулярные веса различных глобулярных белков колеблются в чрезвычайно широких пределах. Это ясно видно из табл. 3.

Таблица 3

Молекулярные веса белков (определенные по скорости седиментации в ультрацентрифуге)

Белок	Молекулярный вес
Фермент рибонуклеаза	12700
Лактоальбумин молока	17400
Миоглобин мышц	16900
Горденн (белок ячменного зерна)	27500
Фермент пепсин	35500
Яичный альбумин	40000
Гемоглобин крови человека	63000
Дифтерийный токсин	74000
Эдестин (белок из семян конопли)	310000
Фермент уреаза из соевых бобов	480000

Какова же структура белковой глобулы? Каким образом расположены в ней по отношению друг к другу отдельные ее составные части?

В настоящее время общепринято представление, высказанное Л. Полингом и Р. Кори. Согласно этому представлению, полипептидные цепи располагаются в белковой глобуле большинства бел-

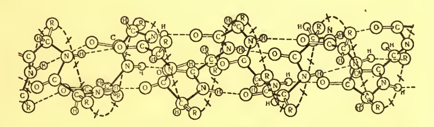


Рис. 4. Схема спиралевидной α-структуры полипептидной цепи в белковой глобуле:

═ + ═ + ─ линия, показывающая ход спирали, — — — — водородные связи

ков в виде спирали, имеющей так называемую α-структуру. Отдельные витки этой спирали, как это видно на рис. 4, соединены между собою водородными связями, благодаря которым сохраняется спиралевидная α-структура. У разных белков α-структура полипептидных цепей в глобуле проявляется в разной степени. При денатурации белка происходит нарушение строения глобулы и спи-

ралевидной α-структуры полипептидных цепей. Отдельные полипептидные цепи, образующие белковую глобулу, в свою очередь могут соединяться между собою водородными и дисульфидными связями (см. стр. 49).

По предложению К. И. Линдерстрем-Ланга, различают *первичную*, *вторичную* и *третичную* структуру белковых молекул. Под первичной структурой понимают число и последовательность аминокислотных остатков, связанных в полипептидной цепочке пептидными связями. Вторичная структура — спиралевидная α-структура, поддерживаемая водородными связями между CO — и — NH группами. И, наконец, под третичной структурой подразумевается та или иная «упаковка» α-спиралей в белковой молекуле. Точно так же, как тонкую стальную спиральную пружину можно поразному уложить, «упаковать» в одном и том же объеме, точно так же α-спирали могут по-разному располагаться в белковой молекуле, создавая ее различную третичную структуру. Та или иная третичная структура возникает в результате взаимодействия между боковыми цепочками полипептидных цепей и поддерживается благодаря дисульфидным, амидным, сложноэфирным, водородным и солевым связям. Известно, что многие белки, в том числе белки растительного происхождения, обладают способностью к обратимой диссоциации и ассоциации. Это означает, что белковая молекула при одних условиях может распадаться, диссоциировать на более мелкие «субмолекулы», которые при других условиях снова соединяются, ассоциируют, образуя первоначальную «сложную» молекулу, обладающую высоким молекулярным весом. О таких «сложных» белковых молекулах, обладающих способностью обратимо диссоциировать на «субмолекулы», говорят, что они обладают также *четвертичной* структурой.

Белки так же, как и аминокислоты, поскольку они содержат и карбоксильные, и аминные группы, являются амфотерными электролитами, т. е. могут диссоциировать и как кислоты, и как основания. В зависимости от реакции растворителя белок будет диссоциировать либо как кислота (в щелочном растворе), либо как щелочь (в кислом растворе). Поэтому в щелочном растворе молекулы белка будут заряжены отрицательно, а в кислом — положительно. В соответствии с этим, если мы через раствор белка будем пропускать электрический ток, то в щелочном растворе молекулы белка будут двигаться к аноду, а в кислом — к катоду.

Однако при определенной реакции раствора, при определенном pH, количество положительных и отрицательных зарядов в молекуле белка будет одинаковое, вследствие чего белковые молекулы не будут передвигаться в электрическом поле. Та реакция среды, при которой устанавливается равенство положительных и отрицательных зарядов в молекуле белка, носит название изоэлектрической точки. Изоэлектрическая точка является одной из характерных констант белков.

Приводим изоэлектрические точки некоторых белков:

Белки	pH
Глиадин пшеничного зерна	7,1
Зеин кукурузного зерна	6,2
Эдестин из семян конопли	5,5

В изоэлектрической точке белок обладает наименьшей растворимостью. На рис. 5 показано, что белок пшеничного зерна — глиадин обладает наименьшей растворимостью в 60-процентном этиловом спирте при pH 7,3, что практически совпадает с его изоэлектрической точкой (pH 7,1).

При изоэлектрической точке наблюдается также наименьшая вязкость белковых растворов и наиболее легкое осаждение белка из раствора. Необходимо, однако, подчеркнуть, что если довести раствор белка до изоэлектрической точки, то сам по себе белок все же не выпадает из раствора в виде осадка. Это объясняется гидрофильностью белковой глобулы. Мы уже указывали, что на ее поверхности расположены различные гидрофильные группы, притягивающие к себе дипольные молекулы воды. Гидрофильность различных групп разная. Так, пептидная связь —CO—NH— связывает одну молекулу воды, карбоксильная группа —COOH связывает четыре молекулы воды, аминная группа — одну и т. д. Те из молекул воды, которые расположены ближе к поверхности белковой глобулы, ориентированы по отношению к ней строго определенным образом. Чем дальше от поверхности глобулы удалены молекулы воды, тем беспорядочнее их расположение в растворе. Водная оболочка, имеющаяся вокруг белковой глобулы, способствует устойчивости белковых растворов и препятствует осаждению белка в виде осадка. Если отнять у белковых глобул связанные с ними молекулы воды и уменьшить таким образом их гидратацию, то они начнут слипаться, образуя более крупные частицы белка, и в конце концов начнут оседать из раствора в виде осадка.

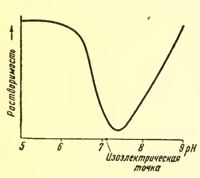


Рис. 5. Связь растворимости пшеничного глиадина с его изоэлектрической точкой

Такое обезвоживание белковых глобул можно произвести с помощью органических растворителей или же с помощью солей. Так, например, при насыщении водного раствора белка спиртом или ацетоном белок выпадает из раствора в виде осадка. Поскольку молекулы спирта или ацетона являются более гидрофильными,

чем белковые глобулы, эти последние лишаются водной оболочки и слипаются в более крупные частицы, выпадающие из раствора в виде осадка. После удаления спирта или ацетона белковый осадок в большинстве случаев может быть снова растворен путем добавления к нему воды.

Для того чтобы вызвать осаждение белка из раствора с помощью солей, необходимо прибавить к белковому раствору достаточно большое количество соли. Процесс выделения белка из раствора под влиянием добавления солей носит название *высаливания*.

Осаждающая способность соли зависит как от катиона, так и от аниона.

Катионы и анионы можно разместить в два ряда по уменьшающейся слева направо осаждающей способности:

Катионы: Cs, Rb, K, Na, Li, Ba, Sr, Ca, Mg.

Анионы: SO_4, Cl, Br, NO_3, J, CNS.

Эти ряды носят название *лиотропных рядов*.

В настоящее время высаливание очень широко применяется для разделения и получения в очищенном виде белков и ферментов.

При определенных условиях белковые растворы превращаются в коллоидные системы, называемые гелями. В гелях растворитель и белок образуют одну внешне гомогенную массу, подобную студню. Гели обладают рядом физических свойств, характерных для твердого вещества. Свойства геля зависят от наличия в нем как бы своеобразного скелета, состоящего из соединенных между собой определенными местами белковых молекул. В гелях вода имеется в виде гидратационной воды, окружающей толстым слоем коллоидные частицы белка, а также в виде воды, удерживаемой в капиллярных пространствах между ними.

Высушенный гель, помещенный в воду, впитывает ее в очень больших количествах. Это впитывание воды, называемое *набуханием геля*, сопровождается увеличением его объема и сильным давлением. Давление набухания достигает иногда чрезвычайно больших величин.

Набухание геля зависит от концентрации водородных ионов и от присутствия солей. Минимальное набухание наблюдается при изоэлектрической точке данного белка. Величина же влияния солей определяется лиотропными рядами.

Явление, обратное набуханию, — отделение воды от геля — называется *синерезисом*.

Процессы набухаиня белков нграют большую роль в пищевой промышленности. Набухание зерна при замочке, кондицнонированин и прорастанин, набухаиие белков муки при нзготовленин теста, образоваиие студией при добавленнн желатнны к различиым коидитерскнм изделиям — все эти процессы тесио связаны с набуханнем белков.

Мы уже указывали, что под влиянием целого ряда воздействий — органических растворителей, кислот, нагревания — белки

претерпевают изменения, которые обозначают общим термином *денатурация*. Наиболее характерным изменением белка при денатурации является потеря белком растворимости в воде, в солевых растворах или растворах спирта. Типичным примером денатурации является свертывание яичного белка при нагревании и происходящая при этом потеря им растворимости в воде. При свертывании и денатурации белка под влиянием высокой температуры уменьшается также водопоглотительная способность белка и способность его к набуханию.

Скорость и степень денатурации белков при нагревании зависят от температуры нагревания и его продолжительности. Денатурация тем больше, чем выше температура и чем продолжительнее нагревание. Кроме того, степень и скорость денатурации белка зависят также от его влажности — денатурация водного раствора белка происходит при прочих равных условиях гораздо скорее, чем денатурация того же белка в высушенном состоянии или же в состоянии геля.

Наряду со снижением растворимости и водопоглотительной способности белка при денатурации происходит целый ряд других изменений, которые выражаются в повышении реактивности сульфгидрильных групп белка — SH, в повышении в большинстве случаев гидролизуемости белка ферментами, в изменении вязкости белковых растворов, в изменении формы белковой глобулы, в потере ферментативной активности.

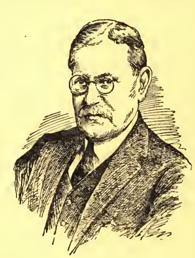
Необходимо отметить, что денатурация белков имеет большое значение в явлениях жизни и сопровождается параллельно идущими изменениями гидрофильности белков и их способности к взаимодействию с другими веществами. Так, например, установлено, что по мере старения организма происходит постепенная, хотя и чрезвычайно медленная, денатурация белков и снижение их гидрофильности. Примером подобной необратимой денатурации является старение семян, которые, даже при наиболее благоприятных условиях хранения, через определенный срок теряют способность к прорастанию; при этом одновременно происходит уменьшение гидрофильности белков. Весьма важную роль в явлениях жизни играет процесс обратимой денатурации белков — переход глобулярных белков в фибриллярное состояние и обратные превращения.

Возможно, что именно с подобными обратимыми превращениями белков, сопровождающимися изменениями их гидрофильности и реактивности, теснейшим образом связаны такие явления, как завядание растений, движение различных органов растений, движение протоплазмы.

Явление денатурации белков очень важно в целом ряде процессов пищевой промышленности: при выпечке хлеба и кондитерских изделий, при сушке макарон, овощей, молока или яичного порошка, при изготовлении консервов и т. д.

ВЫДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ И УСТАНОВЛЕНИЕ ИХ ОДНОРОДНОСТИ

Мы уже указывали выше, что выделение белков из какого-либо биологического материала (семян, листьев, плодов и т. п.) заключается в экстрагировании их тем или иным растворителем после измельчения этого материала. В качестве растворителей применяются вода, солевые растворы, водоспиртовые растворы, слабые кислоты и щелочи. Полученный раствор белка затем обрабатывается тем или иным способом — нагревается, насыщается солями и диализируется, насыщается спиртом или ацетоном, нейтрализуется. При этом из раствора выделяется соответствующая фракция белков, которая отделяется и высушивается, причем эта последняя операция обычно осуществляется путем проведения препарата белка через спирт все возрастающих концентраций. Эти методы, разработанные еще в конце прошлого столетия главным образом благодаря трудам Г. Риттгаузена, Ф. Гофмейстера и особенно Т. Б. Осборна, являлись до последнего времени общепринятыми.



Осборн
Томас Берр
(1859—1929)

С помощью этих методов было получено и детально исследовано огромное число белков растительного и животного происхождения. Однако за последние годы стало очевидно, что применявшиеся ранее методы выделения белков весьма несовершенны. Было установлено, что эти методы в большинстве случаев приводят к большей или меньшей денатурации белков. Вместе с тем было показано, что белки, считавшиеся ранее индивидуальными, однородными, в действительности представляют собою смеси или комплексы, состоящие из нескольких белков, различающихся по своим физическим, химическим и биологическим свойствам.

Эти результаты были получены благодаря новым принципам и методам выделения и исследования однородности белков, разработанным на различных белках животного происхождения, в первую очередь на белках плазмы крови.

Какие же условия выделения обеспечивают получение неденатурированных препаратов белков?

Важнейшим из них является поддержание возможно более низкой температуры на всех этапах получения препарата белка. При

этом установлено, что наилучшей является температура, близкая к температуре замерзания растворителя, применяемого для экстрагирования белков.

Не менее важным условием является поддержание pH на соответствующем уровне, близком к нейтральной реакции или же к изоэлектрической точке данного белка. Таким образом, применение кислот и щелочей для экстрагирования белков является недопустимым.

Органические растворители — спирт и ацетон, применяемые для осаждения и сушки белков, могут вызывать их глубокую денатурацию, сопровождающуюся потерей растворимости и свойственной им ферментативной активности. Это можно наблюдать при осаждении какого-либо из растительных водорастворимых белков (например, легумелина из семян гороха) при помощи спирта или ацетона — белок становится совершенно нерастворимым в воде и теряет многие из свойственных ему ферментативных функций.

Однако в настоящее время показано, что осаждение белков органическими растворителями не вызывает денатурации при условии, если эта операция проводится при низких температурах порядка — 3 или — 5°С. Что касается сушки препаратов белков, то наилучшие результаты дает так называемая лиофильная сушка, при которой вода удаляется в глубоком вакууме из замороженного состояния. С помощью лиофильной сушки, чрезвычайно широко применяемой для получения в сухом виде различных сывороток и вакцин, а также для высушивания различных пищевых продуктов, могут быть получены в неденатурированном состоянии препараты самых нестойких белков и ферментов.

Значительные результаты были получены при изучении кристаллических белков. В 1889 г. впервые был выделен в кристаллическом состоянии альбумин из белка куриных яиц. С тех пор были получены в кристаллическом состоянии многие белки растительного и животного происхождения. Получение белка в виде кристаллов считалось важнейшим критерием его однородности и химической индивидуальности. Однако за последние годы накопился целый ряд данных, показывающих, что кристаллическое состояние белка не является доказательством его однородности. С помощью новых методов исследования было установлено, что многие кристаллические белки представляют собой смеси или комплексы, состоящие из нескольких химически индивидуальных веществ. Так, например, долгое время считалось, что кристаллический β-лактоглобулин молока и кристаллический фермент уреаза безусловно являются вполне однородными белками. В настоящее время установлено, что они состоят из нескольких белковых компонентов.

Исследование однородности белковых препаратов и выделение отдельных белковых фракций производится с помощью различных методов, наиболее важные из которых основаны на применении уль-

трацентрифугирования, электрофореза, хроматографии, а также на изучении растворимости белков.

Особенно широкое применение получил метод электрофореза, детально разработанный А. Тизелиусом.

В аппарате, сконструированном А. Тизелиусом и Г. Свенссоном, на раствор белка, находящийся в U-образной кювете, наслаивается буферный раствор, против которого белковый раствор предварительно диализировался. Кювета, содержащая раствор белка, соединена с сосудами, заполненными тем же буферным раствором, в которых находятся электроды. В аппарате поддерживается температура +4°С, при которой плотность воды является наибольшей, вследствие чего уменьшается влияние конвекционных токов. При включении аппарата в цепь постоянного тока граница раздела буферного раствора и раствора белка начинает передвигаться, что может быть обнаружено по изменению показателя преломления.

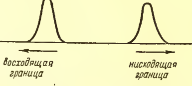


Рис. 6. Электрофоретическая диаграмма легумина при pH 8,2

Если раствор содержит только один белок, частицы которого при данных условиях передвигаются к катоду, то через определенный промежуток времени после начала опыта мы отметим, что граница в одном из колен кюветы движется кверху (восходящая граница), а в другом — книзу (нисходящая граница). С помощью специальных оптических устройств передвижение границы раздела регистрируется на фотографической пластинке.

Электрофоретические диаграммы имеют вид, изображенный на рис. 6, на котором показана диаграмма, полученная нами при исследовании легумина — главного белка семян гороха. И в восходящей и в нисходящей диаграмме мы видим всего лишь один пик, что свидетельствует об электрофоретической однородности легумина.

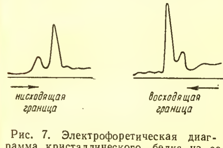


Рис. 7. Электрофоретическая диаграмма кристаллического белка из семян тыквы при pH 4,7

Если исследуемый белок состоит из нескольких компонентов, различающихся по величине заряда, то на электрофоретической диаграмме образуется соответствующее число пиков, как это видно, например, на рис. 7, где изображена диаграмма, полученная при исследовании кристаллического белка из семян тыквы.

Скорость движения белка при электрофорезе (его подвижность)

выражается расстоянием, пройденным белком за единицу времени при падении потенциала на 1*в* при определенных pH и ионной силе раствора.

Электрофоретическое исследование белка производят обычно при нескольких pH, так как установлено, что если при одном pH препарат белка ведет себя как однородное вещество, то при другом pH этот же препарат может быть неоднородным.

За последние годы широкое распространение получил электрофорез белков и пептидов на фильтровальной бумаге, дающий возможность работать с очень малым количеством белка и не требующий сложной аппаратуры, а также электрофорез на порошке из крахмала и целлюлозы.

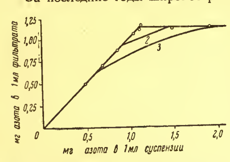


Рис. 8. Кривые растворимости белков:

1 — однородный белок, *2* — смесь двух белков, *3* — твердый раствор двух или более белков

Важным методом исследования однородности белков является метод, основанный на изучении их поведения при растворении и на построении кривых растворимости (рис. 8).

Если препарат белка представляет собой твердый раствор двух или более белков, то кривая растворимости поднимается плавно (см. рис. 8, кривая *3*). Если мы имеем дело с препаратом, содержащим два белковых компонента, не образующих твердого раствора, то на кривой растворимости имеются две точки перелома (см. рис. 8, кривая *2*). Наконец, в случае однородного белка на кривой растворимости обнаруживается одна резкая точка перелома (см. рис. 8, кривая *1*).

Чрезвычайно эффективным методом разделения белков, в частности для выделения очищенных препаратов ферментов, оказалась хроматография на колонках из фосфорнокислого кальция, гидроксилапатита, различных ионообменных смол и производных целлюлозы, подобных диэтиламиноэтилцеллюлозе и карбоксиметилцеллюлозе (см. стр. 133).

В заключение необходимо отметить, что результаты, полученные новыми методами выделения и исследования однородности белков, заставляют нас пересмотреть прежние представления о многих белках как об однородных, химически индивидуальных веществах.

КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

Все белки разделяют на две большие группы: п р о т е и н ы (иначе простые белки), в состав которых входят только лишь остатки аминокислот, и п р о т е и д ы (или сложные белки), которые

являются соединением простого белка (протеина) с каким-либо веществом небелковой природы. Протеины являются запасными и опорными (скелетными) белками. Протеиды имеют особенное значение в протоплазме. Протеины и протеиды подразделяются на ряд подгрупп. Нужно сказать, что рациональная химическая классификация белковых веществ пока отсутствует. Поэтому приходится придерживаться условной классификации, основанной на характере растворимости белков.

Протеины

Альбумины. Белки, растворяющиеся в воде. Из водных растворов альбумины хорошо высаливаются при насыщении солями (например, сернокислым аммонием). При кипячении водных растворов альбуминов они выпадают в виде сгустков денатурированного белка. Типичным представителем группы альбуминов является белок яйца — *овальбумин*. В качестве представителя альбуминов растительного происхождения можно назвать *лейкозин*, содержащийся в зародыше пшеничного зерна, или *легумелин* из семян гороха. Небольшое количество альбуминов находится также в зеленых частях растений. В настоящее время установлено, что растительные альбумины, подобные лейкозину и легумелину, представляют собою смеси или комплексы, состоящие из ряда белков, обладающих различными ферментативными активностями.

Многие из альбуминов могут быть получены в кристаллическом виде.

Глобулины. Нерастворимы в чистой воде, но растворяются в водных растворах различных солей. Чаще всего в качестве растворителя при извлечении глобулинов из различных объектов пользуются теплым 10-процентным раствором хлористого натрия. Для выделения глобулина из солевого раствора этот последний либо разбавляют большим количеством воды, либо подвергают диализу в коллодиевом мешочке. При этом выпадает чистый глобулин. Многие из глобулинов могут быть получены в кристаллическом состоянии. Глобулины наиболее распространены в растительном мире. Они составляют бо́льшую часть белка многих семян, особенно у бобовых растений и масличных культур. Так, в семенах гороха содержится большое количество глобулина, получившего название *легумин*, в семенах фасоли — *фазеолин*, конопли — *эдестин*, сои — *глицинин* и т. д. Жмыхи, остающиеся после извлечения жира из семян масличных культур, состоят главным образом из белка (подсолнечниковый, льняной или хлопковый жмых).

Среди глобулинов животного происхождения можно назвать *лактоглобулин* молока и *фибриноген*, дающий при свертывании крови фибрин.

Проламины. Эта группа белков характерна исключительно для семян злаков и отличается наилучшей растворимостью в

60—80-процентном водном этиловом спирте. Название «проламины» было предложено вследствие того, что все белки, принадлежащие к этой группе, при гидролизе образуют значительное количество аминокислоты пролина и аммиачного азота. Проламины незначительно растворяются в воде, но их соли с кислотами и щелочами растворяются в ней довольно хорошо. При гидролизе проламинов, кроме пролина и аммиака, образуется много глютаминовой кислоты. Лизина они почти не образуют или образуют его в весьма незначительных количествах. Проламины найдены в семенах всех без исключения до сих пор исследованных злаков. Известны следующие проламины: *глиадин* в семенах пшеницы и ржи, *гордеин* в семенах ячменя, *зеин* в семенах кукурузы, *кафирин* в семенах сорго, *авенин* в семенах овса.

Получение проламинов в чистом виде производится путем экстрагирования муки 70-процентным этиловым спиртом с последующей отгонкой спирта в вакууме. Проламин, выпадающий при этом в виде густой клейкой массы, снова растворяется в спирте, и этот раствор вливается в большой объем ацетона. При этом белок выпадает в виде тонкого чистейшего осадка, который отфильтровывается и затем сушится спиртом возрастающей концентрации и, наконец, сухим серным эфиром.

Глютелины. Содержатся в семенах злаков, а также в зеленых частях растений. Растворимы только в растворах щелочей (0,2%). Глютелины изучены довольно слабо из-за трудностей получения их в чистом виде и чрезвычайно длительного фильтрования щелочных вытяжек из семян. Из хорошо изученных глютелинов можно назвать следующие: *глютенин* из семян пшеницы, *оризенин* из семян риса и глютелин, найденный в семенах кукурузы.

Фосфопротеины. Небольшая группа простых белков, характерной особенностью которых является наличие в их составе фосфорной кислоты, связанной сложноэфирной связью с оксигруппой серина. При ферментативном гидролизе фосфопротеинов получается серинофосфорная кислота (см. стр. 35). Фосфопротеины играют важную роль в питании зародышей животных и молодого, растущего животного организма. Известны следующие фосфопротеины: *казеин*, являющийся главным белком молока, *вителлин* яичного желтка и *ихтулин*, содержащийся в икре рыб.

Протамины. Встречаются только лишь в сперме (молоках) рыб. Характерной особенностью протаминов является их незначительный молекулярный вес, не превышающий 10 000, а также то, что они приблизительно на 80% состоят из щелочных аминокислот: аргинина, гистидина и лизина, вследствие чего сами обладают ярко выраженным щелочным характером. Протамины совершенно не содержат серы. В сущности говоря, в силу их небольшого молекулярного веса, они не являются истинными белками. Типичным представителем протаминов является *клупеин*, содержащийся в сперме сельди.

Гистоны. Группа гистонов является промежуточной по своим свойствам между протаминами и настоящими белками. Они также являются щелочными белками, но у них щелочность выражена гораздо слабее, чем у протаминов, и они содержат меньше щелочных аминокислот (приблизительно 20—30%). Некоторые из них входят в состав сложных белков (протеидов). Так, например, *глобин* входит в состав гемоглобина крови. Гистоны найдены преимущественно в животных организмах.

Протеиноиды. Нерастворимые фибриллярные белки, входящие в состав шелка (*фиброин*), волос, рогов, копыт (*кератин*) и сухожилий. Характерной особенностью протеиноидов является высокое содержание в них серы.

Протеиды

Протеиды, или сложные белки, как уже указывалось, представляют собой соединение белка с веществом небелковой природы, которое называют простетической группой. В зависимости от химической природы простетической группы различают следующие протеиды: липопротеиды, глюкопротеиды, хромопротеиды и нуклеопротеиды.

В липопротеидах роль простетической группы играют различные жироподобные вещества — липоиды. Липопротеиды содержатся в большом количестве в составе пластид растительной клетки (например, хлорофильных зерен), а также в протоплазме.

Типичным представителем группы хромопротеидов является гемоглобин крови. В нем белок глобин связан с простетической группой, которая носит название «гем» и является сложным азотистым соединением, содержащим железо. В крови некоторых беспозвоночных животных содержится гемоцианин, в котором белок связан с такой же простетической группой, отличающейся от гема тем, что вместо железа в ней содержится медь.

В глюкопротеидах роль простетической группы играет какой-либо высокомолекулярный углевод. Большое количество глюкопротеидов содержится в различных слизистых выделениях животных организмов.

Особенно важной группой сложных белков являются нуклеопротеиды, играющие первостепенную роль в жизнедеятельности организма, в частности в явлениях наследственности, и содержащиеся в особенно большом количестве в клеточных ядрах. В нуклеопротеидах белок связан с нуклеиновой кислотой. Нуклеиновые кислоты могут быть получены из различных богатых ядрами тканей: спермы, зобной железы, пшеничных зародышей, из бактерий. Нуклеиновые кислоты представляют собой органические кислоты, обладающие огромным молекулярным весом, растворяющиеся в щелочных растворах и осаждающиеся из них при подкислении.

При гидролизе нуклеиновые кислоты дают пуриновые основания, пиримидиновые основания, сахар (рибозу или дезоксирибозу) и фосфорную кислоту.

Пуриновые основания являются производными пурина. Среди них особенное значение имеют *аденин* (6-аминопурин) и *гуанин* (2-амино-6-оксипурин):

```
(1)N=(6)CH              N=CNH2                 N=C—OH
   |    |               |  |                   |  |
(2)HC (5)C—(7)NH        HC C—NH             H2NC  C—NH
   ||    ||    \        || ||  \               || ||  \
   ||    ||    (8)CH    || ||   CH             || ||   CH
   ||    ||    //       || ||  //              || ||  //
(3)N—(4)C—(9)N          N—C—N                  N—C—N
```

пурин — аденин (6-аминопурин) — гуанин (2-амино-6-оксипурин)

В обмене веществ растительных и животных организмов пуриновые основания образуют ряд продуктов, среди которых особенно важна *мочевая кислота*, являющаяся у человека конечным продуктом пуринового обмена. В некоторых растениях накапливаются значительные количества метилированных производных пурина, из которых нужно отметить *кофеин*, содержащийся в составе кофе и чая, а также *теобромин*, представляющий собой активное начало плодов шоколадного дерева (*Theobroma cacao*):

```
NH—CO              CH3—N—CO   CH3          HN—CO   CH3
|   |                  |  |   /             |  |   /
CO  C—NH              OC  C—N              CO  C—N
|   ||   \             |  ||  \             |  ||  \
|   ||    CO           |  ||   CH           |  ||   CH
|   ||   /             |  ||  //            |  ||  //
NH—C—NH             CH3N—C—N             H3CN—C—N
```

мочевая кислота — кофеин — теобромин

Кофейные зерна содержат до 1,5% кофеина; еще выше его содержание в чайных листьях (до 5%). Содержание теобромина в бобах какао доходит до 1,8%. Возбуждающее и повышающее сердечную деятельность действие кофе и чая зависит от наличия в них кофеина.

Содержащиеся в составе нуклеиновых кислот пиримидиновые основания — *цитозин*, *урацил* и *тимин* — являются производными пиримидина:

```
 N=CH         N=C·NH2       NH—CO        HN—CO
 |  |         |  |          |   |        |  |
HC  CH      O=C  CH         CO  CH       OC  C—CH3
||  ||        |  ||         |   ||       |   ||
 N—CH        HN—CH          HN—CH        HN—CH
```

пиримидин — цитозин — урацил — тимин

Недавно в составе нуклеиновых кислот обнаружен также *5-метилцитозин*:

```
      N=C·NH2
      |   |
  O=C   C·CH3
      |   ||
     HN—CH
```

Пуриновые и пиримидиновые основания играют важную роль в качестве стимуляторов роста растений и микроорганизмов.

Каким же образом связаны между собой отдельные части в молекуле нуклеиновых кислот? При осторожном гидролизе нуклеиновых кислот получаются соединения, в которых фуранозная форма сахара рибозы или дезоксирибозы (см. стр. 94) связана с пуриновым или пиримидиновым основанием посредством атома азота. Так, например, аденин связан с рибофуранозой следующим образом:

```
                              H2N—C===N
                                  |     |
                           N——C    CH
                        HC⟨   ||    ||
  HOCH2      O          ——N——C——N
     C              C
   H  H        H  H
      C——C
      OH   OH
```

Подобные соединения, в которых рибоза или дезоксирибоза связана с каким-либо из пуриновых или пиримидиновых оснований, получили название н у к л е о з и д о в (по аналогии с глюкозидами). Изображенный выше нуклеозид является представителем группы нуклеозидов и называется *аденозином*. Нуклеозиды, соединяясь с одной молекулой фосфорной кислоты, дают более сложные вещества, которые называются н у к л е о т и д а м и. Нуклеотиды имеют исключительно большое значение для обмена веществ живой клетки. Такая важная роль нуклеотидов в явлениях жизни связана не только с тем, что они являются «кирпичами», из которых построены гигантские молекулы нуклеиновых кислот, но также с тем, что они входят в состав ряда важнейших ферментов, а некоторые из них являются веществами, в которых аккумулируется энергия, необходимая для осуществления жизненных процессов. Присоединение одной молекулы фосфорной кислоты к молекуле аденозина приводит к образованию нуклеотида, называемого аденозинмонофосфатом, или *адениловой кислотой*, имеющего следующую структурную формулу:

Аналогично аденозину и адениловой кислоте построены другие нуклеозиды и нуклеотиды, образующиеся при гидролизе нуклеиновых кислот и перечисленные ниже:

	Азотистые основания	*Нуклеозиды*	Нуклеотиды
Пуриновые	Аденин	Аденозин	Адениловая кислота
	Гуанин	Гуанозин	Гуаниловая »
Пиримидиновые	Цитозин	Цитидин	Цитидиловая »
	Урацил	Уридин	Уридиловая »
	Тимин	Тимидин	Тимидиловая »
	5-метилцитозин	5-метилцитидин	5-метил-цитидиловая кислота

Адениловая кислота может присоединить к своему фосфатному радикалу еще один или два остатка фосфорной кислоты и образовать при этом *аденозиндифосфат* (АДФ) или *аденозинтрифосфат* (АТФ). В молекуле аденозинтрифосфорной кислоты три фосфорных радикала соединяются последовательно один с другим. Таким образом, если мы обозначим аденозин буквой А, то строение аденозинтрифосфорной кислоты может быть представлено следующим образом:

$$\text{A—O—}\underset{\text{OH}}{\overset{\text{O}}{\overset{\|}{\text{P}}}}\text{—O}\overset{\text{связь 1}}{\sim}\underset{\text{OH}}{\overset{\text{O}}{\overset{\|}{\text{P}}}}\text{—O}\overset{\text{связь 2}}{\sim}\underset{\text{OH}}{\overset{\text{O}}{\overset{\|}{\text{P}}}}\text{—OH}$$

Значком $\sim$ обозначены так называемые макроэргические фосфатные связи, чрезвычайно богатые энергией. Эта энергия освобождается при гидролитическом расщеплении макроэргических связей. Если простая сложноэфирная связь содержит запас энергии, равный приблизительно 2000—3000 калорий, то макроэргическая связь содержит около 7 000—16 000 калорий. Кроме аденозиндифосфата и аденозинтрифосфата, известен целый ряд других соединений, содержащих макроэргические связи: аргининфосфат, дифосфоглицериновая кислота, ацетилкофермент А и др. (см. стр. 322). Соединения, содержащие макроэргические связи, в частности аденозиндифосфорная и аденозинтрифосфорная кислоты, чрезвы-

чайно важны в обмене веществ. Большое значение этих соединений связано с тем, что в макроэргических связях аккумулируется энергия, освобождающаяся при различных реакциях, происходящих в процессе дыхания и брожения. Под влиянием соответствующих ферментов фосфатные и другие группы, содержащие макроэргические связи, могут быть перенесены на другие вещества. Таким образом, энергия, накопившаяся в макроэргических связях, может быть использована далее в обмене веществ.

Совершенно аналогично аденозиндифосфату и аденозинтрифосфату построены *уридиндифосфат* (УДФ) и *уридинтрифосфат* (УТФ), которые необходимы для действия ряда ферментов, катализирующих превращения и синтез многих сахаров — глюкозы, фруктозы, галактозы, сахарозы, трегалозы и их фосфорнокислых эфиров, а также полисахаридов — клетчатки, крахмала, хитина, маннана дрожжей.

$$\begin{array}{ccccccc} & & O & & O & & O \\ & & \| & & \| & & \| \\ У—O— & & P & —O\sim & P & —O\sim & P—OH \\ & & | & & | & & | \\ & & OH & & OH & & OH \end{array}$$

Схема строения уридинтрифосфата (У—остаток уридина)

В состав ряда нуклеотидов, принимающих участие в построении окислительно-восстановительных ферментов, вместо пуриновых или пиримидиновых оснований входят некоторые витамины (например, амид никотиновой кислоты).

Отдельные нуклеотиды, состоящие из соединенных между собой пуриновых или пиримидиновых оснований, рибозы или дезоксирибозы и молекулы фосфорной кислоты, соединяясь между собой, образуют нуклеиновые кислоты. Таким образом, эти последние представляют собой полинуклеотиды.

Мы уже указывали ранее, что имеется два типа нуклеиновых кислот, различающихся между собой по химической природе входящего в их состав сахара. Нуклеиновые кислоты, принадлежащие к первому типу, носят название *дезоксирибонуклеиновой*, или *тимонуклеиновой кислоты* (сокращенно ДНК); они содержат D-2-дезоксирибозу и тимин. Второй тип получил название *рибонуклеиновой*, или *дрожжевой нуклеиновой кислоты* (сокращенно РНК); она содержит урацил, а сахарным компонентом нуклеиновых кислот этого типа является D-рибоза.

Дезоксирибонуклеиновая кислота содержится в основном в ядрах клеток, а рибонуклеиновая — в цитоплазме и ядре.

Молекулярные веса нуклеиновых кислот чрезвычайно велики. Так, например, молекулярный вес рибонуклеиновой кислоты, выделенной из вируса табачной мозаики, равен 2 000 000, а молекулярный вес дезоксирибонуклеиновой кислоты достигает 5 000 000 —8 000 000. Путем изучения оптических свойств и вязкости растворов дезоксирибонуклеиновой кислоты, а также наблюдений в

3*

электронном микроскопе установлено, что молекула дезоксирибонуклеиновой кислоты представляет собою длинную нить, ширина которой равна 20Å, а длина — 30 000Å (3 *мк*).

Молярные соотношения азотистых оснований в нуклеиновых кислотах различны в зависимости от того, из какого объекта выделена нуклеиновая кислота. Это ясно видно из данных, приведенных в табл. 4.

Отдельные нуклеотиды, входящие в состав нуклеиновых кислот, соединяясь между собою, образуют длинную цепочку. Так, например, в дезоксирибонуклеиновой кислоте отдельные нуклеотиды связаны между собой следующим образом:

$C_5H_5O_2N_2$ (тимин)

$C_5H_4N_5$ (аденин)

$C_4H_4ON_3$ (цитозин)

$C_5H_4ON_5$ (гуанин)

Таким образом, молекула дезоксирибонуклеиновой кислоты построена по типу неразветвленной цепочки, в которой отдельные нуклеотиды связываются между собою остатками фосфорной кислоты у 3-го и 5-го углеродных атомов дезоксирибозы.

Таблица 4

Молярные соотношения азотистых оснований в нуклеиновых кислотах различного происхождения
(содержание аденина принято за 10)

Источник	Аденин	Гуанин	Цитозин	Урацил	Тимин	5-метилцитозин
Рибонуклеиновая кислота						
Дрожжи	10,0	12,1	7,8	9	—	—
Вирус табачной мозаики	10,0	9,0	6,1	9,1	—	—
Дезоксирибонуклеиновая кислота						
Пшеничные зародыши	10,0	8,9	6,5	—	10,2	2,2
Бактерии (*Sarcina lutea*)	10,0	26,8	26,2	—	10,6	0,0
Дрожжи	10,0	5,8	5,5	—	10,3	—

В дезоксирибонуклеиновой кислоте две полинуклеотидные цепочки соединяются в свою очередь водородными связями, образующимися между азотистыми основаниями. При этом важно то, что аденин всегда связан водородными связями с тимином, а гуанин — с цитозином, как это показано на рис. 9.

Рис. 9. Спаривание азотистых оснований в молекуле (по Уотсону и Крику)

Рентгеноструктурные исследования приводят к заключению, что две такие цепочки, соединенные водородными связями, образуют спиральную структуру нитевидной молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты, схема которой представлена на рис. 10.

Физико-химические исследования показали, что РНК частично также обладает спиралевидной структурой. В ее молекуле отдельные участки одной

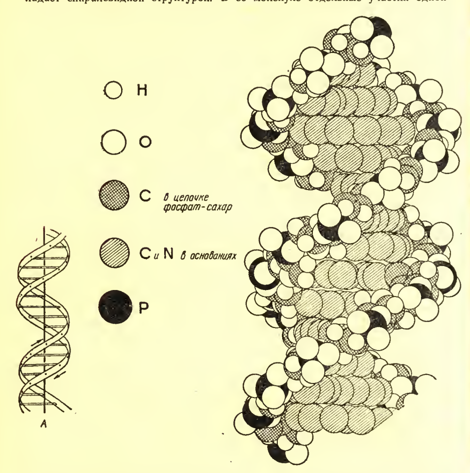


Рис. 10. Схема строения нитевидной молекулы ДНК(*А*) (две спирали—фосфатно-дезоксирибозные цепи; горизонтальные линии—пары азотистых оснований, связывающие обе цепи водородными связями) и модель отрезка молекулы ДНК (*Б*)

цепочки могут соединяться между собой водородными связями между остатками азотистых оснований.

Как показано на рис. 11, в молекуле рибонуклеиновой кислоты нуклеотиды связаны между собой так же, как и в молекуле дезоксирибонуклеиновой кислоты.

Огромное разнообразие и специфичность химических свойств нуклеиновых кислот, обмен которых теснейшим образом связан с синтезом белка в клетке и с наследственностью организмов, определяются рядом факторов: различным содержанием азотистых оснований, последовательностью чередования нуклеотидов, различной «укладкой» нуклеотидных цепочек. По-видимому, в создании специфических особенностей различных нуклеиновых кислот весьма важную роль играет также различная степень их полимеризации.

В нуклеопротеидах нуклеиновая кислота связана ковалентными, водородными и солевыми связями с белком.

Большое количество нуклеопротеидов содержится в зародышах семян, в частности в зародышах пшеницы. А. Н. Белозерским установлено, что в составе нуклеопротеидов пшеничных зародышей содержится гистон, в котором около 30% азота принадлежит азоту основных аминокислот (аргинина и лизина).

Нуклеопротеиды являются главной составной частью фильтрующихся вирусов, обладающих огромным «молекулярным весом», достигающим нескольких десятков миллионов. Фильтрующиеся вирусы являются возбудителями многих заболеваний растений, животных и человека.

Вирусы, вызывающие заболевания животных и человека, содержат либо рибонуклеиновую, либо дезоксирибонуклеиновую кислоты. Вирусы растений содержат рибонуклеиновую кислоту. Фильтрующиеся вирусы были так названы потому, что они проходят через бактериальные фильтры, задерживающие все микроорганизмы. Фильтрующиеся вирусы являются неклеточными формами живого вещества и способны к самовоспроизведению. Однако от бактерий большинство вирусов отличается

Рис. 11. Часть полинуклеотидной цепочки молекулы рибонуклеиновой кислоты (R — обозначает пуриновые или пиримидиновые основания)



Ивановский
Дмитрий Иосифович.
(1864—1920)

тем, что они не способны к самовоспроизведению вне живой клетки.

Фильтрующиеся вирусы были открыты в 1892 г. русским ученым Д. И. Ивановским при изучении мозаичной болезни табака. В настоящее время изучено большое количество вирусов, многие из которых могут быть получены в кристаллическом виде. На рис. 12 приведена фотография кристаллов вируса, вызывающего заболевание томатов, известное под названием «кустистой карликовости» томатов.

Открытие Ивановского имело очень большое принципиальное значение, так как впервые указало на существование неклеточных форм жизни.

За последние годы получены важные данные, касающиеся выяснения структуры вирусов и химической природы их инфекционности. Так, например, установлено, что вирус, вызывающий у табака заболевание табачной мозаикой, на 94% состоит из белка и на 6% — из рибонуклеиновой кислоты. Частица этого вируса имеет «молекулярный вес» 40 000 000—50 000 000 и форму длинного стержня, длина которого около 3000 Å и ширина 150—180Å. На рис. 13 представлен вид частиц вируса табачной мозаики под электронным микроскопом. Центральная часть стержня полая. Таким образом, частица вируса табачной мозаики представляет собою как бы полую толстостенную трубку. Стенки этой «трубки» состоят из белка, расположенного в виде очень плотной спирали, которая в свою очередь внутри «прошита» также идущей по спирали нитью

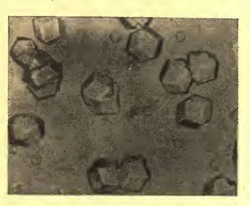


Рис. 12. Кристаллы вируса кустистой карликовости томатов (микрофотография; увеличено в 250 раз)



Рис. 13. Частицы вируса табачной мозаики под электронным микроскопом (увеличено в 200 000 раз)

рибонуклеиновой кислоты. На рис. 14 представлена модель небольшого отрезка частицы вируса табачной мозаики. В этой модели каждая отдельная «ягода» представляет собою элементарную структурную единицу белка с молекулярным весом 17 000. Вверху и на открытом участке модели видны витки рибонуклеиновой кислоты, «прошивающей» частицы белка. Путем мягкой химической обработки белок и рибонуклеиновая кислота вируса табачной мозаики могут быть разделены. Если их затем снова соединить, то они образуют частицы, по форме похожие на исходный вирус и обладающие инфекционностью.

Благодаря применению метода определения «концевых» аминокислот в сочетании с постепенным ферментативным гидролизом удалось расшифровать строение белка вируса табачной мозаики. Элементарная структурная единица этого белка, имеющая молекулярный вес 17400, представляет собой полипептид, состоящий из 158 аминокислотных остатков, расположенных в полипептидной цепи так, как это показано на рис. 15.

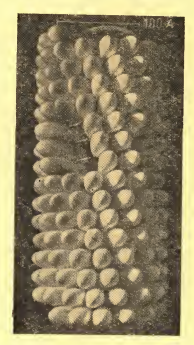


Рис. 14. Модель частицы вируса табачной мозаики

Как показали Г. Шрамм и

Г. Френкель-Конрат, заболевание мозаикой вызывает рибонуклеиновая кислота вируса. При этом, будучи введена в здоровый лист табака, она воспроизводится не только сама, но и вызывает синтез белка, входящего в состав вируса табачной мозаики.

1 5 NH_2 10 15
Ацетил-N-Сер → Тир → Сер → Изол → Тр → Тр → Пр → Сер → Глю → Фен → Вал → Фен → Лей → Сер → Сер

30 NH_2 25 NH_2 20
Ал ← Асп ← Тр ← Цис ← Асп ← Лей ← Изол ← Лей ← Глю ← Изол ← Пр ← Асп ← Ал ← Трип ← Ал

NH_2 NH_2 35 NH_2 NH_2 NH_2 40 NH_2 45
Лей → Гли → Асп → Глю → Фен → Глю → Тр → Глю → Глю → Ал → (Арг) → Тр → Вал → Глю → Вал

60 NH_2 55 50 NH_2 NH_2
Вал ← Тр ← Вал ← Глю ← Пр ← Сер ← Пр ← Лиз ← Трип ← Вал ← Глю ← Сер ← Фен ← Глю ← (Арг)

65 70 NH_2 75
(Арг) → Фен → Пр → Асп → Сер → Асп → Фен → (Лиз) → Вал → Тир → (Арг) → Тир → Асп → Ал → Вал

90 85 80
(Арг) ← Тр ← Асп ← Фен ← Ал ← Гли ← Лей ← Лей ← Ал ← Тр ← Вал ← Лей ← Пр ← Асп ← Лей

NH_2 NH_2 NH_2 NH_2 100 NH_2 105
Асп → (Арг) → Изол → Изол → Глю → Вал → Глю → Асп → Глю → Ал → Асп → Пр → Тр → Тр → Ал

120 115 110
Ал ← Вал ← Тр ← Ал ← Асп ← Асп ← Вал ← Арг ← (Арг) ← Тр ← Ал ← Асп ← Лей ← Тр ← Глю

125 NH_2 130 135
Изол → (Арг) → Сер → Ал → Асп → Изол → Асп → Лей → Изол → Вал → Глю → Лей → Изол → (Арг) → Гли

150 145 140 NH_2
Лей ← Гли ← Сер ← Сер ← Сер ← Глю ← Фен ← Сер ← Сер ← (Арг) ← Асп ← Тир ← Сер ← Гли ← Тр

155 158
Вал → Трип → Тр → Сер → Гли → Пр → Ал → Тр

Рис. 15. Схема строения молекулы белка вируса табачной мозаики:

Обозначения аминокислотных остатков: Гли — глицин, Изол — изолейцин, Вал — валин, Глю — глютаминовая кислота, Глю·NH_2 — глютамин, Цис — цистеин, Ал — аланин, Сер — серин, Лей — лейцин, Тр — треонин, Асп — аспарагиновая кислота, Асп·NH_2 — аспарагин, Лиз — лизин, Пр — пролин, Фен — фенилаланин, Арг — аргинин, Тир — тирозин, Трип — триптофан

Вслед за этим было установлено, что инфекционностью обладает также рибонуклеиновая кислота, выделенная из ряда других вирусов. Таким образом, инфекционность вируса определяется входящей в его состав нуклеиновой кислотой.

ЛИТЕРАТУРА

«Белки». Под редакцией Г. Нейрата и К. Бэйли; т. I, Химия белковых веществ; т. II, Физико-химия белковых веществ. ИЛ, М., 1956; т. III, Биохимия белковых веществ. ИЛ, М., 1958.

«Белки в промышленности и сельском хозяйстве». Конференция по белку. Изд. АН СССР, М., 1952.
Белозерский А. Н. Нуклеопротеиды и нуклеиновые кислоты растений и их биологическое значение. Изд. АН СССР, М., 1959.
Белозерский А. Н. Нуклеиновые кислоты и их биологическое значение. Изд. «Знание», М., 1963.
Биологические структуры и функции на молекулярном уровне, Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум I. Изд. АН СССР, М., 1962.
Блок Р. и Боллииг Д. Аминокислотный состав белков и пищевых продуктов. ИЛ, М., 1949.
Буланкин И. Н. А. Я. Данилевский — основоположник отечественной биохимии. Изд. Харьковского гос. ун-та им. А. М. Горького, 1950.
Доти П. Полинуклеотиды и нуклеиновые кислоты. «Вестн. АН СССР» № 9, стр. 24, 1960.
Ивановский Д. И. О двух болезнях табака. Медгиз, М.,1949.
Кизель А. Р. Химия протоплазмы. Изд. АН СССР, М., 1940.
Киуняиц И. Л. и Первова Е. Я. Успехи в области установления строения и синтез протеинов. «Успехи химии», т. 24, вып.6, стр. 641, 1955.
Конарев В. Г. Нуклеиновые кислоты и морфогенез растений. Изд-во «Высшая школа», М., 1959.
Котельникова А. В. Строение и синтез биологически важных рибонуклеотидов и их производных. «Успехи биологической химии», т. 3, стр. 206. Изд. АН СССР, 1958.
Ледерер М. Введение в электрофорез на бумаге и родственные методы. ИЛ, М., 1956.
Нуклеиновые кислоты. Химия и биология. Под редакцией Э. Чаргаффа и Д. Дэвидсона. ИЛ, М., 1957.
Опарин А. И. Белок как основа жизненных процессов. Совещание по белку. Сб. докл., стр. 5. Изд. АН СССР, М., 1948.
Осборн Т. Б. Растительные белки. Биомедгиз, М., 1935.
Пасынский А. Г. Взаимодействие белков с неэлектролитами и органическими электролитами. Совещание по белку. Сб. докл., стр. 64. Изд. АН СССР, М., 1948.
Паулинг Л. и Кори Р. Конфигурация полипептидных цепей в белках. Сб. «Современные проблемы биохимии», стр. 38. ИЛ, М., 1957.
Спирин А. С. Современные представления о молекулярной природе и строении нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов. «Успехи биологической химии», т. 3, стр. 93, 1962.
Товарницкий В. И. Химия и биохимия фильтрующихся вирусов. «Успехи биологической химии», т. I, стр. 143. Изд. АН СССР, М., 1950.
Цыперович А. С. Денатурация глобулярных белков. «Успехи химии», т. 25, вып. 9, стр. 1173, 1956.
Шорм Ф. Белки, их структура и функция. Труды V Международного биохимического конгресса. Пленарное заседание, стр. 38. Изд. АН СССР, М., 1963.
Advances in Protein Chemistry, Vol. 1—18, Academic Press Inc. New York, 1944—1963.
Bell E. A. Canavanine in the Leguminosae. «Biochem. J.», 75, 618, 1960.
Block J. R., Durrum E. L. a. Zweig G. A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis. Academic Press, New York, 1957.
Brown E. G. The Acid-Soluble Nucleotides of Mature Pea Seeds. «Biochem J.», 85, 633, 1962.
Cramer F. Papierchromatographie. Vierte Auflage, V-g Chemie, Weinheim/Bergstr., 1958.
Danielson C. E., Plant Proteins, «Annual Rev. Plant Physiol.», 7, 215, 1956.
Fowden L., New Amino Acids in Plants. «Biological Reviews», 33, 393, 1958

Fox S. a. Foster J., Introduction to Protein Chemistry. J. Wiley, New York, 1957.
Fraenkel-Conrat H. Design and Function at the Threshold of Life: the Viruses. Academic Press, New York, 1962.
Glutathione. «Biochem. Soc. Sympos.», N 17, Edited by E. M. Crook. Cambridge University Press, 1960.
Johns E. N. and Butler J. A. V. Studies on Histones. 4. The Histones of Wheat Germ. «Biochem. J.», 84, 436, 1962.
Jordan D. O. The Chemistry of Nucleic Acids. Butterworth and C°, London, 1960.
Нашков Д. и Шиполиии Р. Електрофорез върху хартия. Изд. «Медицина и физкультура», София, 1957.
Papirová chromatografie, Red. Hais I. M., Macek K., NČAV, Praha, 1959.
Pirie N. W. Leaf Proteins. «Annual Rev. Plant Physiol.», 10, 33, 1959.
Scheraga H. Protein Structure. Academic Press, New York, 1961.
The Structure of Nucleic Acids and Their Role in Protein Synthesis, «Biochem. Soc. Sympos.», No 14, Cambridge, 1957.
Tsugita A. Gish D. T., Young J., Fraenkel-Conrat H., Knight C. A. a. Stanley W. M. The Complete Amino Acid Sequence of the Protein of Tobacco Mosaic Virus. «Proc. Nat. Acad. Sci., U. S.A., 46, 1463, 1960.
Wilkins M. H. F. Molecular Configuration of Nucleic Acids. «Science», 140, 941, 1963.

Глава II

УГЛЕВОДЫ

Значение углеводов для растительных и животных организмов исключительно велико. Углеводы составляют до 85—90% веществ, слагающих растительный организм. Углеводы являются основным питательным и главным опорным материалом для растительных клеток и тканей.

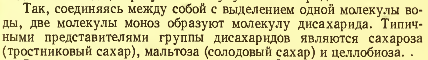


Фишер Эмиль
(1852—1919)

Углеводы состоят из углерода, водорода и кислорода. Некоторые из них, как, например, содержащийся в грибах глюкозамин, содержат также и азот. У большинства углеводов водород и кислород содержатся в том же соотношении, что и в воде. Таковы, например, глюкоза $C_6H_{12}O_6$ или сахароза $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Однако некоторые из них, как, например, сахар рамноза, имеют иное соотношение водорода и кислорода — $C_6H_{12}O_5$.

Все углеводы разделяют на две группы — монозы, или моносахариды, и полиозы, или полисахариды. Несколько молекул моносахаридов, соединяясь между собой с выделением воды, образуют молекулу полисахарида.



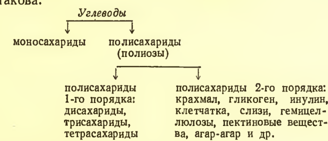
Так, соединяясь между собой с выделением одной молекулы воды, две молекулы моноз образуют молекулу дисахарида. Типичными представителями группы дисахаридов являются сахароза (тростниковый сахар), мальтоза (солодовый сахар) и целлобиоза.

Три молекулы моноз, соединяясь с выделением двух молекул воды, образуют молекулу трисахарида. К трисахаридам относится рафиноза. Углеводы, молекула которых состоит из соединенных остатков четырех моноз, называются тетрасахаридами. Таковым является, например, стахиоза.

Ди-, три- и тетрасахариды составляют группу полисахаридов (полиоз) первого порядка, все представители которой легко растворимы в воде и в чистом виде являются кристаллическими вещества-

ми. Более сложные углеводы, для которых еще точно не установлено количество остатков простых сахаров, входящих в состав их молекулы, называются полисахаридами (полиозами) второго порядка. Они представляют собой сложные вещества с очень большим молекулярным весом. В воде они либо не растворяются совсем, либо дают вязкие, коллоидные растворы. К числу полисахаридов второго порядка принадлежат слизи, крахмал, гликоген, клетчатка, гемицеллюлозы, пектиновые вещества и другие.

Таким образом, схема разделения углеводов на отдельные группы такова:



Необходимо отметить, что в изучении строения и ферментативных превращений углеводов, особенно моносахаридов, важную роль сыграли исследования великого немецкого химика Эмиля Фишера.

МОНОСАХАРИДЫ

Общие свойства моносахаридов

Моносахариды можно рассматривать как производные многоатомных спиртов. Одним из простейших многоатомных спиртов является глицерин. При окислении (дегидрировании) глицерина можно получить два простейших моносахарида — глицериновый альдегид и диоксиацетон, играющие важную роль в обмене веществ живой клетки:

$$\begin{array}{l} CH_2 \cdot OH \\ | \\ CH \cdot OH \\ | \\ CH_2 \cdot OH \\ \text{глицерин} \end{array} \xrightarrow{-2H} \left.\begin{array}{l} C{\overset{O}{\underset{H}{\lessgtr}}} \\ | \\ CH \cdot OH \\ | \\ CH_2 \cdot OH \end{array}\right\} \text{глицериновый альдегид}$$

$$\xrightarrow{-2H} \left.\begin{array}{l} CH_2 \cdot OH \\ \;\;\rangle C{=}O \\ CH_2 \cdot OH \end{array}\right\} \text{диоксиацетон}$$

Глицериновый альдегид и диоксиацетон, поскольку они содержат по 3 углеродных атома, принадлежат к подгруппе моносахаридов триоз. Моносахариды с четырьмя углеродными атомами в молекуле носят название тетроз, с пятью — пентоз, с шестью — гексоз и семью — гептоз. Наиболее важными и распространенными в природе являются пентозы и гексозы.

На примере глицеринового альдегида и диоксиацетона мы видим, что моносахариды, являясь производными многоатомных спиртов, содержат в своей молекуле наряду со спиртовыми группами —OH, альдегидную $-\mathrm{C}\begin{smallmatrix}\diagup\!\!\!\diagup \mathrm{O}\\ \diagdown \mathrm{H}\end{smallmatrix}$ или кетонную $=\mathrm{C}=\mathrm{O}$ группировку. В зависимости от того, какую из этих группировок содержит молекула моносахарида, его называют альдозой или кетозой. Таким образом, глицериновый альдегид является альдозой, точнее альдотриозой, а диоксиацетон — кетотриозой.

Подобно тому, как мы можем получить глицериновый альдегид или диоксиацетон при окислении трехатомного спирта глицерина, мы получаем любой иной моносахарид при окислении соответствующего многоатомного спирта. Так, например, при окислении шестиатомного спирта сорбита, содержащегося во многих плодах, может получиться глюкоза или фруктоза:

$$\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ CH_2OH \\ \text{сорбит} \end{array} \begin{array}{l} \xrightarrow{-2H} \left.\begin{array}{c} H-C=O \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ CH_2OH \end{array}\right\} \text{глюкоза} \\ \\ \xrightarrow{-2H} \left.\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ C=O \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ CH_2OH \end{array}\right\} \text{фруктоза} \end{array}$$

Таким образом, при окислении первичной спиртовой группы — CH_2OH образуется альдоза, а при окислении вторичной спиртовой группы — CHOH — кетоза.

Необходимо подчеркнуть, что эти превращения в зависимости от условий могут идти в обратном направлении, когда из моносахарида образуется соответствующий многоатомный спирт.

Глюкоза, сорбит и фруктоза содержат асимметрические атомы углерода, у которых все четыре валентности замещены различными атомными группами. Это значит, что могут существовать различные стереоизомеры каждого данного соединения, различающиеся по своим физическим и химическим свойствам.

Рассмотрим прежде всего самый простой случай стереоизомерии моносахаридов — глицериновый альдегид. Он имеет лишь один асимметрический атом углерода. Это соединение существует в трех формах, а именно — в виде правовращающей и левовращающей форм, различающихся знаком удельного вращения, а также в виде смеси, состоящей из 50% правовращающего и 50% левовращающего изомера. Такая смесь лишена оптической активности и носит название рацемического соединения, или рацемата. Рацемат можно разделить на составляющие его оптически активные стереоизомеры. Эти последние по своему строению относятся друг к другу, как предмет и его зеркальное изображение, и имеют структуру, которая, будучи спроектирована на плоскость, имеет следующий вид:

$$\begin{array}{cc} \begin{array}{c} C{\overset{\diagup\!\!\diagup O}{\underset{\diagdown H}{}}} \\ | \\ H—C—OH \\ | \\ CH_2OH \end{array} & \begin{array}{c} C{\overset{\diagup\!\!\diagup O}{\underset{\diagdown H}{}}} \\ | \\ HO—C—H \\ | \\ CH_2OH \end{array} \end{array}$$

правовращающий *d*—глицериновый альдегид

левовращающий *l*—глицериновый альдегид

Этот пример выбран также потому, что глицериновый альдегид играет важную роль при установлении конфигурации того или иного моносахарида.

Раньше правое или левое удельное вращение органических соединений обозначали буквами *d* и *l*. В настоящее время эти обозначения имеют другой смысл. Все моносахариды, у которых замещающие группы при углеродном атоме, ближайшем к первичной спиртовой группе — $CH_2 \cdot OH$, имеют то же расположение в пространстве, как и *d*-глицериновый альдегид, причисляются к *d*-ряду. К *l*-ряду относятся моносахариды, имеющие у того же углеродного атома строение, подобное *l*-глицериновому альдегиду.

Что же касается удельного вращения, то его обозначают знаками « + » и « — ». Таким образом, соединение, принадлежащее по

своему строению к *l*-ряду и вместе с тем вращающее вправо, обозначается как *l*(+). Примером подобного генетического обозначения оптически активных соединений могут служить стереоизомеры молочной кислоты:

$$
\begin{array}{ccc}
\begin{array}{c} COOH \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ CH_3 \end{array}
& \qquad &
\begin{array}{c} COOH \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ CH_3 \end{array}
\end{array}
$$

d(−)-молочная кислота *l*(+)-молочная кислота

В настоящее время для обозначения конфигурации сахаров чаще всего применяют заглавные буквы D и L, но величиной со строчную, т. е. D и L.

Ниже приведены структурные формулы наиболее распространенных в растениях альдогексоз — D-глюкозы, D-галактозы и D-маннозы.

Цифрами обозначены номера углеродных атомов, звездочками те из них, которые являются асимметрическими.

Сопоставление формул этих трех альдогексоз показывает, что все они принадлежат к D-ряду.

$$
\begin{array}{ccccc}
\begin{array}{c} C\overset{\diagup O}{\diagdown H} \\ | \\ H-C^*-OH \\ | \\ HO-C^*-H \\ | \\ H-C^*-OH \\ | \\ H-C^*-OH \\ | \\ CH_2\cdot OH \end{array}
& \quad &
\begin{array}{c} {}^{(1)}C\overset{\diagup O}{\diagdown H} \\ | \\ H-{}^{(2)}C^*-OH \\ | \\ HO-{}^{(3)}C^*-H \\ | \\ HO-{}^{(4)}C^*-H \\ | \\ H-{}^{(5)}C^*-OH \\ | \\ {}^{(6)}CH_2\cdot OH \end{array}
& \quad &
\begin{array}{c} C\overset{\diagup O}{\diagdown H} \\ | \\ HO-C^*-H \\ | \\ HO-C^*-H \\ | \\ H-C^*-OH \\ | \\ H-C^*-OH \\ | \\ CH_2\cdot OH \end{array}
\end{array}
$$

D(+)-глюкоза D(+)-галактоза D(+)-манноза

Вместе с тем необходимо отметить, что широко распространенная в растениях кетогексоза, называемая фруктозой, или плодовым сахаром, также принадлежит к D-ряду, несмотря на то, что растворы ее вращают плоскость поляризованного света влево. При-

надлежность фруктозы к D-ряду ясно видна при рассмотрении ее структурной формулы:

$$\begin{array}{c} {}^{(1)}CH_2\cdot OH \\ | \\ {}^{(2)}C{=}O \\ | \\ OH{-}{}^{(3)}C^*{-}H \\ | \\ H{-}{}^{(4)}C^*{-}OH \\ | \\ H{-}{}^{(5)}C^*{-}OH \\ | \\ {}^{(6)}CH_2\cdot OH \end{array}$$

D(—)-фруктоза

Необходимо отметить, что в слабощелочных растворах глюкоза, манноза и фруктоза претерпевают взаимные превращения. Так, если к раствору глюкозы добавить $Ba(OH)_2$ или $Ca(OH)_2$, то через некоторое время можно обнаружить присутствие в растворе наряду с глюкозой также маннозы и фруктозы. То же самое наблюдается при действии слабых щелочей на растворы маннозы или фруктозы. В растении взаимопревращения сахаров происходят очень легко под влиянием соответствующих ферментов.

Если наблюдать удельное вращение водных растворов моносахаридов, то обнаруживается, что оно начинает изменяться сразу же после растворения сахара, достигая лишь через некоторое время постоянной величины. Это явление получило название мутаротации. Было высказано предположение, что оно объясняется существованием различных форм данного сахара. И, действительно, были получены, например, две формы D-глюкозы — одна с удельным вращением $+113°$ и другая, имеющая удельное вращение $+19°$. При растворении в воде первой из них удельное вращение понижается и достигает постоянной величины $+52{,}5°$. Удельное вращение водных растворов второй формы, наоборот, постепенно возрастает и останавливается, наконец, на той же величине $+52{,}5°$. Первая из этих форм была названа α-D-глюкозой и вторая β-D-глюкозой. Для объяснения явления мутаротации и для объяснения ряда других свойств моносахаридов впервые московским профессором М. А. Колли в 1870 г. было высказано предположение о том, что моносахариды существуют также и в виде так называемых циклических форм, в которых число асимметрических углеродных атомов на один больше, чем в формулах, изображенных ранее.

Гипотеза, высказанная Колли, впоследствии была подтверждена исследованиями немецкого химика Б. Толленса. В настоящее время установлено, что в растворах D-глюкоза существует в трех

взаимопревращающихся формах, две из которых являются циклическими:

```
  H—C*—OH              C=O (H)             HO—C*—H
  H—C*—OH              H—C*—OH             H—C*—OH
 HO—C*—H    O ⇄       HO—C*—H      ⇄       HO—C*—H      O
  H—C*—OH              H—C*—OH             H—C*—OH
  H—C*—                H—C*—OH             H—C*—
   CH2·OH               CH2·OH              CH2·OH
```

α-D-глюкоза D-глюкоза β-D-глюкоза

Аналогичные взаимопревращения трех форм установлены также для других моносахаридов, в том числе и для D-фруктозы:

```
  CH2·OH  OH           CH2·OH               CH2·OH
     C*—               C=O                 HO—C*—
 HO—C*—H     O ⇄      HO—C*—H              HO—C*—H      O
  H—C*—OH              H—C*—OH     ⇄        H—C*—OH
  H—C*—OH              H—C*—OH              H—C*—OH
   CH2—                 CH2·OH               CH2—
```

α-D-фруктоза D-фруктоза β-D-фруктоза

Как видно из приведенных выше формул, при образовании циклических форм альдозы у нее становится асимметрическим также первый углеродный атом, а у кетозы — второй.

Превращение открытой формы моносахарида в циклическую сопровождается образованием кислородного «мостика». У глюкозы он образуется между 1 и 5-м углеродными атомами, а у фруктозы — между 2 и 6-м. Образование этого кислородного мостика происходит за счет альдегидной (или кетонной) группы и спиртовой группы и представляет собой внутримолекулярную реакцию образова-

ния полуацеталя, как это можно видеть из схемы взаимодействия альдегида и спирта:

$$R \cdot C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow H \end{matrix} + HO \cdot CH_2 \cdot R_1 \rightarrow R \cdot C \begin{matrix} \nearrow H \\ -OH \\ \searrow O \cdot CH_2 \cdot R_1 \end{matrix}$$

альдегид спирт полуацеталь

Приведенные ранее циклические формы моносахаридов являются, как это видно из нижеследующих формул, производными гетероциклического соединения, называемого пираном; поэтому они получили название пираноз:

$$\begin{matrix} | \\ CH \\ \| \\ CH \\ | \\ CH_2 \quad O \\ | \\ CH \\ \| \\ CH \\ | \end{matrix}$$

пиран

или

HC—O—CH, HC=HC, CH=CH, CH_2 (кольцо пирана)

$HO \cdot HC$—O—$CH \cdot CH_2 \cdot OH$, $HO \cdot HC$, $CH \cdot OH$, $CH \cdot OH$ (кольцо пиранозы)

пираноза

Таким образом, α-D-глюкоза представляет собой α-D-глюкопиранозу, а β-D-глюкоза — β-D-глюкопиранозу. Особенно наглядно можно представить строение циклических форм моносахаридов при помощи предложенных В. Хэуорзсом так называемых перспективных формул, изображенных ниже:

(6) CH_2OH; (5) C—O; (4) C; (3) C; (2) C; (1) C; H, OH, HO, H, OH, H, OH, H

α-D-глюкопираноза

(6) CH_2OH; (5) C—O; (4) C; (3) C; (2) C; (1) C; H, OH, HO, H, OH, OH, H, H

β-D-глюкопираноза

В этих формулах жирными линиями изображены связи между углеродными атомами, попадающими при перспективном изображении молекулы на передний план.

Как видно, α- и β-формы глюкозы различаются положением ОН группы, находящейся у 1-го углеродного атома, по отношению к плоскости кольца.

Альфа- и бета-формы глюкозы могут существовать также в виде таких изомеров, у которых кольцо содержит не 5, а 4 углеродных атома и, следовательно, кислородный мостик связывает 1-й и 4-й углеродный атомы. Такая форма глюкозы является производным фурана и поэтому носит название глюкофуранозы:

$CH=CH-CH=CH$ (кольцо замыкается через O) или $HC=CH$, $HC=CH$ (связаны через O)

фуран

$HO\cdot HC\;-O-\;CH\cdot CH(OH)CH_2\cdot OH$

$HO\cdot HC - CH\cdot OH$

глюкофураноза

Глюкофураноза при изображении ее в виде перспективной формулы будет выглядеть следующим образом:

(6) H_2COH — (5) HOCH — (4) C(H) — O — (1) C(H)(OH); (3) C(OH)(H) — (2) C(H)(OH)

При изображении с помощью перспективных формул β-D-фруктопираноза и β-D-фруктофураноза имеют следующий вид:

β-D-фруктопираноза

β-D-фруктофураноза

В водном растворе какого-либо моносахарида присутствуют одновременно все его формы. Так, например, в растворе глюкозы имеется ее нециклическая (альдегидная) форма и все ее цикличе-

ские формы, т. е. α- и β-глюкопираноза, а также α- и β-глюкофураноза.

α-пираноза — оксо-форма — α-фураноза

гидратная форма

β-пираноза — енольная форма — β-фураноза

При этом количество нециклической формы составляет всего лишь около 1%. Выше представлены взаимопревращения различ-

ных форм глюкозы в водном растворе. Превращения эти могут происходить через так называемую «гидратную» форму глюкозы.

Альфа- и бета-формы моносахаридов имеют большое значение в связи с тем, что они образуют соответствующие производные — г л ю к о з и д ы, резко различающиеся по отношению к ферментам. Наиболее простыми из этих производных являются α- и β-метилглюкозиды. Они имеют следующее строение:

$$
\begin{array}{l}
H-C-O\cdot CH_3 \\
H-C-OH \\
HO-C-H \quad\quad O \\
H-C-OH \\
H-C- \\
\quad\; CH_2\cdot OH
\end{array}
\qquad\qquad
\begin{array}{l}
H_3C\cdot O-C-H \\
\quad\quad\;\; H-C-OH \\
\quad\quad HO-C-H \quad\quad O \\
\quad\quad\;\; H-C-OH \\
\quad\quad\;\; H-C- \\
\quad\quad\quad\;\; CH_2\cdot OH
\end{array}
$$

α-метилглюкозид — β-метилглюкозид

В случае фруктозы глюкозид образуется за счет гидроксила, находящегося у 2-го углеродного атома.

Поэтому гидроксильные группы, расположенные у 1-го углерода глюкозы и у 2-го углерода фруктозы, носят название глюкозидных гидроксилов.

Таким образом, метилглюкозиды представляют собой простые эфиры, которые могут образоваться в результате взаимодействия глюкозидного гидроксила моносахарида со спиртом.

Глюкозиды чрезвычайно широко распространены в растениях, причем в качестве неуглеводного компонента в них могут содержаться самые разнообразные соединения (см. стр. 193).

Весьма существенным является то, что по типу α- и β-метилглюкозидов построены некоторые важные дисахариды. В этих последних вместо метильного радикала содержится остаток какого-либо моносахарида.

Моносахариды, реагируя с кислотами, могут давать сложные эфиры. Некоторые из этих сложных эфиров имеют первостепенное значение в обмене веществ.

Таковы, например, некоторые фосфорнокислые эфиры глюкозы и фруктозы, играющие важную роль в превращениях крахмала и гликогена, а также в процессах дыхания и спиртового брожения — глюкозо-6-фосфат, глюкозо-1-фосфат, фруктозо-1,6-дифосфат и фруктозо-6-фосфат:

глюкопиранозо-6-фосфат

глюкопиранозо-1-фосфат

фруктофуранозо-1,6-дифосфат

фруктофуранозо-6-фосфат

Из числа тетроз — моносахаридов, содержащих в молекуле четыре углеродных атома, нужно назвать D-эритрозу. Этот сахар, повидимому, является одним из промежуточных продуктов фотосинтеза (см. стр. 357).

D-эритроза

Среди пентоз — моносахаридов, в молекуле которых содержится пять углеродных атомов, наибольшую роль играют в растении ксилоза, арабиноза и рибоза. Приводим структурные формулы этих сахаров:

β-пиранозная форма

L-арабиноза

α-пиранозная форма

D-ксилоза

α-фуранозная форма
D-рибозы

Ксилоза и арабиноза встречаются в растениях в свободном виде, но содержатся в них главным образом в виде высокомолекулярных полисахаридов, называемых *пентозанами*. Рибоза в виде фуранозной формы входит в состав нуклеиновых кислот, содержащихся в протоплазме растительных клеток.

В зеленых растениях, в микроорганизмах и тканях животных найдены кетопентозы — D-рибулоза и L-ксилулоза:

$$\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ C=O \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} \qquad \begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ C=O \\ | \\ HCOH \\ | \\ HOCH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

D-рибулоза L-ксилулоза

D-рибулозе приписывают важную роль в качестве соединения, фосфорнокислый эфир которого связывает углекислый газ в процессе фотосинтеза (см. стр. 357).

Ксилоза и рибулоза в виде фосфорнокислых эфиров играют существенную роль в ферментативных взаимопревращениях различных моносахаридов (см. стр. 378).

В нуклеиновых кислотах, входящих в состав клеточного ядра, содержится в фуранозной форме производное рибозы D-2-дезоксирибоза:

$$\begin{array}{c} CHO \\ | \\ CH_2 \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

D-2-дезоксирибоза

В растениях встречаются также другие дезоксисахара, являющиеся производными гексоз. Таким сахаром является, например, рамноза, представляющая собой 6-дезоксиманнозу:

$$\begin{array}{l} _{(1)}CHO \\ \quad| \\ HCOH \\ _{(2)}| \\ HCOH \\ _{(3)}| \\ HOCH \\ _{(4)}| \\ HOCH \\ _{(5)}| \\ _{(6)}CH_3 \end{array}$$

α-пиранозная форма

L-рамноза (L-6-дезоксиманноза)

Дезоксигексозы называют также метилпентозами.

L-рамноза получается при гидролизе многих растительных глюкозидов, а также некоторых слизей. В свободном виде она содержится в листьях сумаха (*Rhus toxicodendron*).

При окислении моносахаридов, в зависимости от условий, при которых проходит окисление, могут образовываться различные продукты. Если D-глюкозу окислять с помощью бромной воды, то альдегидная группа окисляется до карбоксильной группы, причем образуется D-глюконовая кислота:

$$\begin{array}{c} _{(1)}COOH \\ | \\ H-{}_{(2)}C-OH \\ | \\ HO-{}_{(3)}C-H \\ | \\ H-{}_{(4)}C-OH \\ | \\ H-{}_{(5)}C-OH \\ | \\ _{(6)}CH_2OH \end{array}$$

D-глюконовая кислота

Образование больших количеств D-глюконовой кислоты наблюдается при развитии некоторых видов плесневых грибов на растворах, содержащих глюкозу.

При более жестких условиях окисления окисляется с образованием карбоксила не только альдегидная группа, но и первичная спиртовая группа — CH_2OH. При этом из D-глюкозы образуется сахарная кислота, а из D-галактозы — слизевая кислота:

$$
\begin{array}{ccc}
\begin{array}{c}
COOH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
COOH
\end{array}
& \qquad &
\begin{array}{c}
COOH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
COOH
\end{array} \\
\text{сахарная кислота} & & \text{слизевая кислота}
\end{array}
$$

Окисление моносахаридов может происходить также таким образом, что окисляется с образованием карбоксила только лишь первичная спиртовая группа. Образующиеся при этом кислоты получили общее название у р о н о в ы х кислот. Из глюкозы в этом случае образуется глюкуроновая, из галактозы — галактуроновая и из маннозы — маннуроновая кислота.

Уроновые кислоты легко образуются в растении и играют в нем большую роль. Они входят в состав пектиновых веществ, некоторых растительных слизей и других сложных полисахаридов, получивших общее название полиуронидов.

Предполагают, что уроновые кислоты играют большую роль в качестве промежуточных продуктов при образовании пентоз из гексоз. Так, например, образующаяся при окислении глюкозы глюкуроновая кислота, подвергаясь декарбоксилированию (выделяя CO_2), может дать ксилозу. При декарбоксилировании галактуроновой кислоты образуется арабиноза. Эти превращения могут происходить в растении по схеме:

β-D-глюкопираноза — *β-D-глюкуроновая кислота* — *β-D-ксилопираноза*

Окисление моносахаридов некоторыми слабыми окислителями, как, например, щелочными растворами окисей металлов (меди или висмута), широко используется для количественного определения сахаров. При этом происходит окисление свободной карбонильной группы моносахарида, а соответствующий металл, восстанавливаясь, образует закись в случае меди и металлический висмут — в случае применения соли висмута. Определяя количество образовавшейся закиси меди, можно по специальным таблицам рассчи-

тать количество имевшегося в растворе сахара. Особенно широко применяется для количественного определения сахаров щелочной раствор окиси меди, называемый реактивом Фелинга. Фелингову жидкость восстанавливают все моносахариды и те полисахариды, которые содержат свободную карбонильную группу (свободный глюкозидный гидроксил). Сахара, которые дают реакции с указанными окисями металлов, носят название восстанавливающих в противоположность невосстанавливающим углеводам, не содержащим свободных карбонильных групп.

Говоря о распространенных в растительном мире производных моносахаридов, нельзя не назвать *глюкозамин*, представляющий собой D-глюкопиранозу, у которой при втором углероде гидроксильная группа замещена аминной группой — NH_2:

```
           OH
          /
H — (1)C——————
       |      |
H — (2)C — NH2|
       |      |
HO — (3)C — H  O
       |      |
H — (4)C — OH |
       |      |
    (5)HC—————
       |
      CH2OH
```

D - глюкозамин (2-амино-D-α-глюкопираноза)

Глюкозамин получается при гидролизе хитина — высокомолекулярного углевода, содержащегося в большом количестве в теле ракообразных и насекомых, а также в грибах. Кроме глюкозамина, в природе встречается также галактозамин. Эти аминосахара встречаются почти исключительно в виде N-ацетильных производных (в аминной группе вместо одного атома водорода содержится ацетильный остаток CH_3CO —).

Свойства отдельных моносахаридов и некоторых их производных

Рассмотрим свойства отдельных моноз и некоторых их производных, встречающихся в растениях.

D-*глюкоза* (декстроза, виноградный сахар). Сбраживается дрожжами. В водных растворах имеет удельное вращение $+ 52{,}5°$. Кристаллизуется из воды в виде пластинок, имеющих состав $C_6H_{12}O_6 + H_2O$; из метилового спирта получаются безводные кри-

сталлы. Глюкоза изготовляется в больших количествах путем кислотного гидролиза картофельного или кукурузного крахмала и составляет главную массу патоки, широко применяемой в кондитерском производстве.

В свободном виде содержится в зеленых частях растений, в семенах, различных фруктах и ягодах, в меде. Входит в состав крахмала, клетчатки, гемицеллюлоз, гликогена, декстринов, сахарозы, мальтозы, рафинозы, многих глюкозидов.

D-*фруктоза* (левулёза, плодовый сахар). Сбраживается дрожжами. Из воды кристаллизуется в виде иголочек, имеющих состав $2C_6H_{12}O_6 + H_2O$, из спирта — в виде безводных ромбических призм; удельное вращение водного равновесного раствора — 92,4°. Фруктоза гораздо слаще других сахаров. Содержится в зеленых частях растений, в нектаре цветов, в плодах, в мёде.

Фруктоза в виде D-фруктофуранозы входит в состав сахарозы, а также многих высокомолекулярных полисахаридов, образующих при гидролизе фруктозу. Эти полисахариды, получившие название полифруктозидов, содержатся в значительных количествах во многих растениях, особенно из семейства сложноцветных (например, в цикории, земляной груше, кок-сагызе). Наиболее известным из этих полисахаридов является инулин, накапливающийся в качестве запасного углевода в клубнях земляной груши.

D-*галактоза*. Встречается в качестве составной части некоторых дисахаридов — лактозы (молочного сахара), мелибиозы и содержащегося в растениях трисахарида — рафинозы. Входит в состав многих высокомолекулярных полисахаридов: употребляемого в кондитерской промышленности агар-агара, различных гумми и слизей, а также гемицеллюлоз. В свободном кристаллическом виде галактоза выделяется на плодах плюща. Галактоза кристаллизуется из воды в виде моногидрата, из спирта — в виде не содержащих воды шестигранных пластинок, плавящихся при 167°C. Удельное вращение водных растворов галактозы, после окончания мутаротации и установления равновесия между α- и β-формами, + 80,2°. Галактоза сбраживается лишь так называемыми «лактозными» дрожжами.

D-*манноза*. В растениях встречается в виде составной части различных высокомолекулярных полисахаридов — слизей и гемицеллюлоз. Маннозу обычно получают путем кислотного гидролиза гемицеллюлоз, образующих скорлупу каменного ореха. Удельное вращение водных растворов после установления равновесия между α- и β-формами равно + 14,2°. Манноза сбраживается дрожжами.

L-*сорбоза*. Сахар, содержащийся в сброженном бактериями соке рябины. Образуется при окислении шестиатомного спирта

D-сорбита некоторыми бактериями. Сорбоза имеет большое значение в витаминной промышленности, так как является важным промежуточным продуктом при синтезе антицинготного витамина C (аскорбиновой кислоты). Если производить окисление сорбита с помощью бактерии *Acetobacter suboxydans* при достаточном доступе воздуха, то выход сорбозы достигает 90%. Сорбоза имеет температуру плавления 159—161°C; удельное вращение водных растворов после окончания мутаротации — 43,4°.

```
   CH₂OH
    |
    C=O
    |
HO—C—H
    |
 H—C—OH
    |
HO—C—H
    |
   CH₂OH
```

L-сорбоза

L-*арабиноза.* Широко распространена в растениях в качестве составной части слизей, гумми, пектиновых веществ и гемицеллюлоз. Арабинозу обычно получают путем кислотного гидролиза вишневого клея или свекловичного жома. Хорошо кристаллизуется из спирта в виде призм с температурой плавления + 160°C. Удельное вращение водных растворов после окончания мутаротации + 104,5°. Не сбраживается дрожжами.

D-*ксилоза* (древесный сахар). Входит в состав многих растительных слизей, гумми и гемицеллюлоз. Получается при кислотном гидролизе отрубей, соломы, древесины, хлопковой шелухи. Для кондитерской промышленности ксилозу получают в довольно значительных количествах путем кислотного гидролиза кукурузных кочерыжек, дающих ее около 12%. Обычными дрожжами ксилоза не сбраживается. Кристаллизуется из воды в виде призм с температурой плавления 143°C. Удельное вращение водных растворов после окончания мутаротации + 18,8°. На растворах ксилозы, получаемых путем кислотного гидролиза древесины, соломы или кукурузных початков, очень хорошо растут и развиваются дрожжеподобные организмы *Torula* и *Monilia*, дающие весьма ценный, богатый белком и витаминами корм для скота.

D-*рибоза.* Температура плавления D-рибозы равна 87°C; удельное вращение водных растворов — 23,7°. Как мы уже указывали, D-рибоза и D-2-дезоксирибоза входят в состав нуклеиновых кислот, содержащихся в цитоплазме и клеточных ядрах всех организмов; производное рибозы — спирт *рибит* входит в состав некоторых витаминов и ферментов. Именно поэтому рибоза и дезоксирибоза представляют чрезвычайный интерес для биохимиков и

биологов. Рибоза и фруктоза являются моносахаридами, содержащимися в природных соединениях в фуранозной форме.

Гептозы. В природе найдены две гептозы — D-*манногептулоза* и D-*седогептулоза*, причем оба сахара встречаются только в виде кетоформы. D-манногептулоза содержится в большом количестве в плодах авокадо (*Persea americana*); температура плавления 152° С, $[\alpha]_D^{20} = +29{,}0°$ (в воде). Дрожжами не сбраживается. Интересно, что D-манногептулоза усваивается организмом человека, но при этом предварительно превращается в гексозы. При восстановлении D-манногептулозы образуется соответствующий многоатомный спирт персеит, содержащийся в плодах, листьях и семенах авокадо.

D-седогептулоза	D-манногептулоза
CH_2OH	CH_2OH
|	|
CO	CO
|	|
HOCH	HOCH
|	|
HCOH	HOCH
|	|
HCOH	HCOH
|	|
HCOH	HCOH
|	|
CH_2OH	CH_2OH

D-седогептулоза найдена в больших количествах в растениях из семейства толстянковых (*Crassulaceae*). Аморфна, не сбраживается дрожжами, $[\alpha]_D^{20}$ от $+2°$ до $+3°$ (в воде). При восстановлении D-седогептулозы образуется многоатомный спирт волемит, найденный в грибах *Lactarius volemus* и в корнях некоторых растений. Установлено, что седогептулоза в виде ее фосфорнокислых эфиров образуется в хлорофиллоносной ткани растений уже в первые секунды фотосинтеза. Поэтому предполагают, что она играет важную роль в качестве одного из промежуточных продуктов фотосинтеза.

Сорбит. Один из наиболее распространенных в растениях многоатомных спиртов. Особенно часто D-сорбит встречается в различных фруктах и ягодах. В ягодах рябины, из сока которых он впервые был выделен, его содержится до 7%. Заметные количества

$$
\begin{array}{c}
CH_2OH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
CH_2OH
\end{array}
$$

сорбита содержат плоды слив, персиков, яблок, вишен, груш и абрикосов. В листьях сливы его содержится до 4,5% на сухой вес. Из воды кристаллизуется в виде тонких бесцветных палочек. Температура плавления сорбита 97,5°С; удельное вращение водных растворов его равно — 1,98°. При окислении, в зависимости от условий, может образовывать глюкозу, фруктозу или сорбозу.

Маннит. Широко распространен в растениях. Часто выделяется на поверхности коры некоторых деревьев (например, оливкового дерева и некоторых видов ясеня). Маннит в большом количестве содержится в так называемой «манне». Она представляет собой засохшие выделения некоторых видов ясеня, разводимых

$$
\begin{array}{c}
CH_2OH \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
CH_2OH
\end{array}
$$

в Италии, а также растущего в Аравии тамарикса (*Tamarix mannifera*). Маннит содержится также в водорослях, грибах (до 11% на сухое вещество), в заразихе (паразит подсолнечника), многих овощах и плодах (например, в моркови, луке, оливках и ананасах). Температура плавления маннита 166°С. Удельное вращение его водных растворов равно — 0,21°. При добавлении буры к водному раствору маннита удельное вращение резко возрастает. Это свойство маннита используется для его количественного определения. При окислении дает маннозу и фруктозу. Особенно большие количества маннита содержатся в бурых водорослях из семейства ламинариевых (морская капуста). Содержание маннита в морской капусте Дальнего Востока составляет от 5,2 до 20,5% на сухое вещество. Указанные водоросли используются в качестве сырья для получения маннита.

Дульцит. Подобно сорбиту и манниту, дульцит содержится во многих растениях, выделяется на поверхности коры деревьев. Так называемая «мадагаскарская манна», находимая в виде засохших выделений на коре некоторых деревьев, представляет собой почти чистый дульцит. Дульцит выделяется также на поверхности листьев бересклета. При окислении дает галактозу и слизевую кислоту.

$$
\begin{array}{c}
CH_2OH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
CH_2OH
\end{array}
$$

дульцит

ПОЛИСАХАРИДЫ

Полисахариды 1-го порядка (сложные сахара, или олигосахариды)

Ди-, три- и тетрасахариды называют часто о л и г о с а х а р и д а м и, т. е. полисахаридами, состоящими из небольшого числа остатков моноз («олигос» по-гречески — немногий).

Д и с а х а р и д ы

Дисахариды построены из соединенных между собой остатков двух молекул моносахаридов. При этом в дисахариде могут соединяться две гексозы, две пентозы или же гексоза и пентоза. Дисахариды представляют собой глюкозиды, так как соединение двух молекул моносахаридов происходит за счет глюкозидного гидроксила одного моносахарида и одной из гидроксильных групп другого моносахарида; в результате выделяется одна молекула воды и образуется молекула дисахарида. При нагревании с кислотами или под действием соответствующих ферментов происходит гидролиз дисахаридов — распад их на две молекулы моносахаридов. Наиболее распространенные и важные дисахариды при гидролизе распадаются следующим образом:

сахароза	лактоза	мелибиоза	мальтоза	трегалоза	целлобиоза
$+ H_2O$	$+ H_2O$	$+ H_2O$	$+ H_2O$	$+ H_2O$	$+ H_2O$
↙ ↘	↙ ↘	↙ ↘	↙ ↘	↙ ↘	↙ ↘
глюкоза фруктоза	глюкоза галактоза	глюкоза галактоза	глюкоза глюкоза	глюкоза глюкоза	глюкоза глюкоза

Мы видим, что разные дисахариды могут быть построены из одного и того же моносахарида. Так, например, мальтоза, целлобиоза и трегалоза дают при гидролизе только глюкозу. Различия в свойствах этих трех дисахаридов могут быть обусловлены либо

тем, что в их состав входят разные изомеры глюкозы (α- или β-формa), либо тем, что молекулы глюкозы по-разному соединены между собой.

Это последнее обстоятельство играет очень важную роль. Мы уже указывали ранее, что многие свойства моносахаридов, в частности способность к восстановлению фелинговой жидкости, зависят от наличия в их молекуле глюкозидного гидроксила. Поэтому, если при образовании дисахарида моносахариды соединяются за счет обоих своих глюкозидных гидроксилов, то образовавшийся дисахарид не будет восстанавливать фелингову жидкость. К числу таких дисахаридов относятся трегалоза и сахароза. Если же моносахариды соединены в молекуле дисахарида таким образом, что глюкозидный гидроксил одного из моносахаридов остается свободным, то такой дисахарид восстанавливает фелингову жидкость. К таким дисахаридам относятся мальтоза, лактоза и целлобиоза.

Дисахариды типа мальтозы, имеющие один свободный глюкозидный гидроксил, обнаруживают в растворах мутаротацию, так как тот остаток моносахарида, который сохранил свой глюкозидный гидроксил, присутствует в растворе как в виде α-формы, так и в виде β-формы. В соответствии с этим и целая молекула дисахарида типа мальтозы существует в растворе в виде α- и β-формы.

Сахароза (тростниковый сахар, свекловичный сахар) $C_{12}H_{22}O_{11}$. Чрезвычайно широко распространена в растениях, встречаясь в листьях, стеблях, семенах, фруктах, ягодах, корнях, клубнях. Играет огромную роль в питании человека. Очень легко растворима в воде. Кристаллизуется в виде больших моноклинических кристаллов. Температура плавления сахарозы 160—186°С. Удельное вращение водных растворов + 66,5°. Не восстанавливает фелинговой жидкости. Сбраживается дрожжами. Структурная формула сахарозы имеет следующий вид:

```
        (6) CH2OH
        (5) |                                  (1)
       H   C———O    H              HOH2C          O         H
         /  H   \  |                    |      /     \     |
   (4) C  OH   H  C (1)            (2) C     H   HO   C (5)
   HO   \     |  /  |                |  \   |    |  /  |
     (3) C———C (2)  |———O————————————|   C———C     CH2OH
         |   |                       (3) |   (4)|   (6)
         H   OH                          OH     H
```

Таким образом, молекула сахарозы представляет собой сочетание α-глюкопиранозы и β-фруктофуранозы, соединенных за счет своих глюкозидных гидроксилов (1-α-D-глюкопиранозидо-2-β-D-фруктофуранозид).

Поскольку сахароза не содержит свободного глюкозидного гидроксила, она не обнаруживает мутаротации. При нагревании с кислотами или под действием фермента сахаразы (иначе инвертазы) сахароза гидролизуется, образуя смесь глюкозы и фруктозы, на-

зываемую инвертным сахаром. Название инвертный сахар происходит от слова «инверсия», что значит изменение какой-либо величины на обратную. В результате гидролиза сахарозы происходит изменение удельного вращения раствора с правого на левое, поскольку образующаяся при гидролизе фруктоза имеет значительно бо́льшее левое вращение, чем правое вращение образующейся глюкозы. Именно поэтому гидролиз сахарозы называют иначе инверсией.

Характерной особенностью сахарозы является исключительная легкость ее гидролиза в кислом растворе — скорость здесь приблизительно в тысячу раз больше, чем скорость гидролиза при этих же условиях таких дисахаридов, как мальтоза или лактоза.

Главными источниками получения сахарозы в пищевой промышленности являются сахарная свекла и сахарный тростник.

Мелибиоза $C_{12}H_{22}O_{11}$. Входит в состав трисахарида рафинозы (см. стр. 102) и содержится в свободном виде в соке некоторых растений. Температура плавления мелибиозы 82—85°С. Сбраживается дрожжами низового брожения. В молекуле мелибиозы соединены пиранозные формы глюкозы и галактозы за счет первичной спиртовой группы глюкозы и глюкозидного гидроксила галактозы.

Мелибиоза является 6-глюкозо-α-галактозидом. Поскольку в ней имеется свободный глюкозидный гидроксил, она обнаруживает в водных растворах мутаротацию и восстанавливает фелингову жидкость. После окончания мутаротации удельное вращение водного раствора равно + 129,5°.

Лактоза (молочный сахар). Содержится в молоке млекопитающих животных. Найдена в пыльцевых трубочках некоторых растений. Сбраживается лишь особыми так называемыми лактозными дрожжами, содержащимися в кефире и кумысе. В молекуле лактозы имеется один свободный глюкозидный гидроксил в остатке глюкопиранозы:

лактоза

Поэтому она восстанавливает фелингову жидкость и в водных растворах обнаруживает мутаротацию. Вращает вправо. При гидролизе дает галактозу и глюкозу, являясь β-галактозидоглюкозой.

На сыродельных заводах, из сыворотки, являющейся отходом производства, получают значительные количества кристаллической лактозы, используемой в пенициллиновой промышленности для приготовления питательных сред.

Мальтоза (солодовый сахар). Образуется при расщеплении (гидролизе) крахмала под действием фермента амилазы (диастаза). Содержится в большом количестве в солоде и солодовых экстрактах. Поскольку в молекуле мальтозы имеется один свободный глюкозидный гидроксил, она восстанавливает фелингову жидкость и обнаруживает в водных растворах мутаротацию:

мальтоза

В молекуле мальтозы остаток глюкозы, потерявший свой глюкозидный гидроксил, является α-глюкозой. Поэтому мальтоза представляет собой α-глюкозидоглюкозу. Удельное вращение мальтозы в водных растворах + 130,4°. Сбраживается дрожжами в присутствии глюкозы. Под действием фермента мальтазы гидролизуется с образованием двух молекул глюкозы.

Трегалоза (грибной сахар). Содержится в грибах, в рожках спорыньи, водорослях, в некоторых высших растениях (из рода *Selaginella*). В пекарских дрожжах содержание трегалозы достигает 18% на сухое вещество. Сбраживается большинством дрожжей. Не содержит свободного глюкозидного гидроксила и поэтому не восстанавливает фелингову жидкость.

трегалоза

Удельное вращение водных растворов + 178,3°. При гидролизе дает две молекулы глюкозы.

Гентиобиоза. Дисахарид, входящий в состав многих глюкозидов, из которых наиболее важными являются амигдалин и кроцин (см. стр. 195 и 137). В связанном виде гентиобиоза содержится

в корнях различных видов горечавки (*Gentiana*), от которой получила свое название. При гидролизе гентиобиоза образует две молекулы D-глюкозы. В молекуле гентиобиозы остатки глюкозы связаны за счет глюкозидного гидроксила одной молекулы глюкозы и гидроксила, находящегося у 6-го углеродного атома другой молекулы глюкозы. Таким образом, гентиобиоза представляет собой 6-глюкозо-β-D-глюкопиранозид:

гентиобиоза

Поскольку гентиобиоза содержит свободный глюкозидный гидроксил, она восстанавливает фелингову жидкость и в растворах обнаруживает мутаротацию.

Трегалоза и гентиобиоза, по-видимому, образуются в крахмало-паточном производстве при кислотном гидролизе крахмала в результате вторичных реакций конденсации глюкозы (так называемая «реверсия» глюкозы).

Целлобиоза. Является основной строительной единицей клетчатки (целлюлозы). В свободном виде содержится в соке (пасоке) некоторых деревьев. Поскольку в молекуле целлобиозы содержится свободный глюкозидный гидроксил, она восстанавливает фелингову жидкость и в водных растворах обнаруживает мутаротацию. От мальтозы отличается тем, что глюкоза, потерявшая свой глюкозидный гидроксил, является β-глюкозой. Таким образом, целлобиоза представляет собой β-глюкозидоглюкозу:

целлобиоза

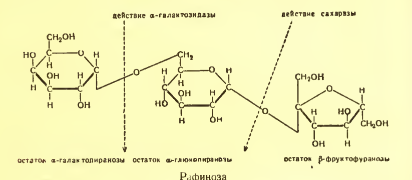
Трисахариды

Рафиноза (мелитриоза) $C_{18}H_{32}O_{16}$. Встречается во многих растениях, в частности в семенах хлопчатника и в засохших выделениях (манне) эвкалипта. Содержится в сахарной свекле, накап-

ливаясь в больших количествах в мелассе при производстве свекловичного сахара.

В свежеубранных корнях сахарной свеклы, содержащих до 20% сахарозы, содержание рафинозы составляет от 0,2 до 1% при расчете на сахарозу. При этом интересно, что при хранении свеклы содержание рафинозы в ней возрастает.

Рафиноза кристаллизуется в виде длинных игл с пятью молекулами воды; удельное вращение водных растворов + 105,2°. Не восстанавливает фелингову жидкость. При нагревании с кислотами рафиноза гидролизуется, образуя одну молекулу глюкозы, одну молекулу фруктозы и одну молекулу галактозы. Ферментативный гидролиз рафинозы идет по двум направлениям. Под действием фермента сахаразы от рафинозы отщепляется фруктоза и остается мелибиоза. При действии фермента α-галактозидазы, содержащейся в эмульсине (ферментном препарате, получаемом из миндаля), рафиноза расщепляется на галактозу и тростниковый сахар. Ниже показано строение рафинозы и те места в ее молекуле, в которых происходит разрыв при ферментативном гидролизе:



Рафиноза

Тетрасахариды

В некоторых растениях содержится тетрасахарид, получивший название стахиозы. Стахиоза представляет собой соединение двух остатков α-галактозы, одного остатка α-глюкозы и одного остатка β-фруктозы.

Стахиоза частично сбраживается дрожжами. Она не содержит ни одного свободного глюкозидного гидроксила и поэтому не восстанавливает фелингову жидкость. Стахиоза содержится в корнях *Stachys*, в семенах желтого люпина, сои, гороха, чечевицы, в «манне» некоторых видов ясеня.

С л а д о с т ь р а з л и ч н ы х с а х а р о в. Сладкий вкус является важнейшим свойством сахаров и их производных, различающихся между собой по этому признаку. Необходимо, однако, отметить, что сладкий вкус свойствен многим другим веществам, ничего общего не имеющим по своей химической при-

роде с сахарами (например, сахарину). Сравнительные данные о сладости различных сахаров и их производных таковы:

Сахароза	100	Ксилоза	40
Фруктоза	173	Мальтоза	32
Инвертный сахар	130	Рамноза	32
Глюкоза	74	Галактоза	32
Сорбит	48	Рафиноза	23
Глицерин	48	Лактоза	16

Полисахариды 2-го порядка (полиозы)

Бо́льшая часть углеводов, входящих в группу полисахаридов 2-го порядка, представляет собой вещества с большим молекулярным весом, дающие коллоидные растворы. При изучении химической природы высокомолекулярных полисахаридов очень трудным является получение их в чистом виде. Перегонка этих веществ с целью их очистки невозможна, а ряд других веществ, в частности минеральные соли и белки, присутствующие в растениях, затрудняют получение чистых препаратов этих углеводов.

При изучении химического строения полисахаридов 2-го порядка очень большую роль сыграли методы введения в их молекулу различных органических радикалов, например метильного CH_3 — или ацетильного CH_3—CO— . Метилирование и ацетилирование, проводимые в мягких условиях, позволяют получать препараты метильных и ацетильных производных высокомолекулярных полисахаридов, обладающие гораздо бо́льшей чистотой, чем исходные вещества. Вместе с тем введение метильных или ацетильных радикалов в молекулу полисахарида сильно облегчает определение структуры входящих в его состав моносахаридов, а также химической природы связей, соединяющих остатки молекул отдельных моносахаридов. Весьма важным методом изучения высокомолекулярных полисахаридов является их частичный кислотный или ферментативный гидролиз. Так, например, с помощью мягкого кислотного гидролиза было показано, что целлобиоза является основной структурной единицей клетчатки. С помощью ферментов было установлено, что мальтоза представляет собой основной «строительный кирпичик» крахмала.

Высокомолекулярные углеводы чрезвычайно важны в обмене веществ у растений и животных, в питании животных и человека, в ряде отраслей промышленности.

Так, крахмал является запасным углеводом растений, составляющим бо́льшую часть веществ, входящих в состав многих важнейших пищевых продуктов: муки, хлеба, картофеля и круп.

Пектиновые вещества содержатся в большом количестве во фруктах, ягодах, стеблях (лен) и корнеплодах (сахарная свекла)

и играют важную роль при промышленной переработке всех этих продуктов растительного происхождения. Клетчатка является веществом, не усваиваемым желудочно-кишечным трактом человека. Вместе с тем она имеет огромное промышленное значение, поскольку из клетчатки состоят хлопок, бумага, льняные ткани и поскольку она используется для изготовления искусственного шелка (вискозы) и взрывчатых веществ.

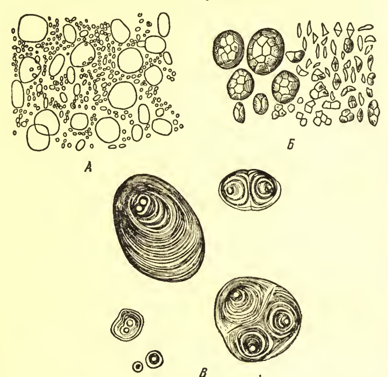


Рис. 16. Крахмальные зерна пшеницы (*А*), овса (*Б*) и картофеля (*В*)

Крахмал не является химически индивидуальным веществом. В растениях он находится в виде крахмальных зерен, различающихся по своим свойствам и химическому составу как в одном и том же растении, так особенно в различных растениях.

Крахмальные зерна имеют овальную, сферическую или неправильную форму. На рис. 16 показан вид под микроскопом крахмальных зерен некоторых важнейших культур. Размеры (диаметр) крахмальных зерен колеблются в пределах от 0,002 до 0,15 *мм*.

Наиболее крупными являются крахмальные зерна картофеля, а самыми мелкими — крахмальные зерна риса и гречихи.

Характерная форма крахмальных зерен дает возможность легко различать их под микроскопом, что используется для обнаружения примеси одного продукта к другому (например, кукурузной или овсяной муки к пшеничной).

Крахмальные зерна разделяются на простые и сложные: простые зерна представляют собой однородные образования (крахмальные зерна картофеля, пшеницы, ржи); сложные зерна являются сочетанием более мелких частиц (крахмальные зерна овса и риса).

Однако разделение зерновых культур на культуры, имеющие простые и сложные крахмальные зерна, весьма условно. Например, наряду с простыми крахмальными зернами у пшеницы попадаются также сложные и, наоборот, среди преобладающих сложных у овса попадаются и простые.

Удельный вес крахмала равен в среднем 1,5. При исследовании крахмальных зерен в поляризационном микроскопе обнаруживается, что они обладают двойным лучепреломлением, т. е. представляют собой кристаллическое тело. Действительно, рентгенографические исследования показали, что крахмальные зерна обладают кристаллической структурой.

Чрезвычайно характерным свойством крахмала является его способность окрашиваться в синий цвет при добавлении раствора йода в водном растворе йодистого калия. Пользуясь этим реактивом, можно обнаружить очень малые количества крахмала. Появление синего цвета при добавлении йода объясняется, по-видимому, образованием химических и адсорбционных соединений между йодом и крахмалом. В холодной воде крахмальные зерна только лишь набухают, но не растворяются. Если взвесь крахмальных зерен в воде постепенно нагревать, то они набухают все сильнее и, наконец, будет достигнута температура, при которой крахмал образует чрезвычайно вязкий коллоидный раствор, называемый крахмальным клейстером. Температура, при которой происходит это изменение крахмала, называется температурой клейстеризации. Крахмал на 96,1—97,6% состоит из полисахаридов, образующих при кислотном гидролизе глюкозу. Довольно заметно в крахмале содержание минеральных веществ — от 0,2% до 0,7%. Минеральные вещества представлены главным образом фосфорной кислотой. Наконец, в крахмале найдены некоторые высокомолекулярные жирные кислоты — пальмитиновая, стеариновая и другие, содержание которых достигает 0,6%. В настоящее время можно считать доказанным, что эти жирные кислоты адсорбированы на полисахаридной фракции крахмала, так как они могут быть удалены из него экстракцией нейтральными органическими растворителями, например метиловым спиртом. Что же касается фосфорной кислоты, то оказалось, что в одних видах крахмала — кукурузном, пшеничном и рисовом — она представляет собой примесь,

удаляемую путем экстракции теплой водой, спиртом или диоксаном, а в других, например в картофельном, она связана сложноэфирной связью с углеводной частью. Наличие такой прочной химической связи фосфорной кислоты в картофельном крахмале доказывается тем, что при его кислотном или ферментативном гидролизе получается глюкозо-1-фосфат. Некоторые исследователи придают большое значение наличию в картофельном крахмале химически связанной фосфорной кислоты, полагая, что именно от нее зависят многие физические и химические свойства крахмала. Однако взгляд этот в настоящее время не имеет надежных доказательств.

Углеводная часть крахмала состоит из двух полисахаридов, различающихся по своим физическим и химическим свойствам, — *амилозы* и *амилопектина*.

Амилоза легко растворяется в теплой воде и дает растворы со сравнительно невысокой вязкостью. Амилопектин растворяется в воде лишь при нагревании под давлением и дает очень вязкие растворы. Амилоза имеет молекулярный вес в пределах 50 000—160 000, в то время как молекулярный вес амилопектина достигает миллиона и более. Растворы амилозы весьма нестойки, и при стоянии из них выделяются кристаллические осадки. Амилопектин, наоборот, дает чрезвычайно стойкие растворы.

В молекуле амилозы остатки глюкозы связаны глюкозидными связями между 1-м и 4-м углеродными атомами; таким образом, они образуют длинную цепочку, как это показано ниже[1]:

Исследования, проведенные с помощью рентгеноструктурного анализа, показали, что в молекуле амилозы соединены несколько таких параллельно расположенных цепочек. В каждой из цепочек глюкозные остатки расположены по спирали.

В молекуле амилопектина глюкозные остатки соединены глюкозидными связями не только между 1-м и 4-м углеродными атомами, но также между 1-м и 6-м. Таким образом они образуют разветвленную структуру, схема которой такова:

[1] Черными точками обозначены углеродные атомы.

Если представить строение молекулы амилопектина и амилозы в виде схемы, то она будет иметь следующий вид (рис. 17). Амилоза окрашивается раствором йода в синий цвет, а амилопектин — в

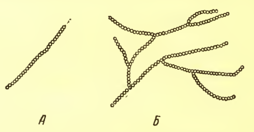


Рис. 17. Схема строения молекулы амилозы (*А*) и амилопектина (*Б*)

красно-фиолетовый. Установлено, что окрашивание амилозы йодом сопровождается образованием комплексного химического соединения. При этом молекулы йода располагаются внутри спирально изогнутых цепочек амилозы, как это показано на рис. 18. Что касается амилопектина, то, по-видимому, его окрашивание от йода является результатом образования адсорбционных соединений.

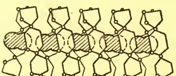


Рис. 18. Схема строения комплекса амилозы с йодом. В просвете спирально изогнутой цепи, состоящей из глюкозных остатков (обозначены шестиугольниками), расположены молекулы йода (заштрихованы)

Содержание амилозы и амилопектина в крахмале разных растений определено лишь в последние годы, когда были разработаны для этой цели достаточно точные методы. Важнейшие из этих методов следующие:

1) экстрагирование амилозы горячей водой;

2) осаждение амилозы из растворов с помощью бутилового и других спиртов;

3) избирательная адсорбция амилозы на клетчатке.

Анализы различных крахмалов, проведенные с помощью указанных методов, дали следующие результаты:

Крахмал	*Амилоза* %	*Амилопектин* %
Картофельный	19 — 22	78 — 81
Пшеничный	24	76
Кукурузный	21 — 23	77 — 79
Рисовый	17	83

Крахмал яблок состоит только из амилозы.

Необходимо отметить, что содержание амилозы и амилопектина в крахмале может изменяться в зависимости от сорта растения и от того, из какой части растения он получен. Так, например, в этом смысле различаются крахмалы круглых и мозговых горохов, крахмал из листьев и клубней картофеля или же крахмал из зерна различных сортов кукурузы. Если содержание амилозы в крахмале из клубней картофеля составляет 22%, то в крахмале из молодых побегов картофеля оно равно 46%. Если в крахмале из зерна обычной кукурузы содержится 22% амилозы, то в крахмале так называемой восковидной кукурузы (*Zea mays ceratina*) амилоза отсутствует полностью, вследствие чего крахмал из зерен этого растения окрашивается йодом в красно-коричневый цвет. С другой стороны, выведены сорта кукурузы, крахмал которых содержит до 82% амилозы.

Соотношение амилозы и амилопектина в крахмале изменяется также во время созревания кукурузного зерна.

При кипячении с кислотами крахмал превращается в глюкозу. При более слабом воздействии кислот (например, 7,5% HCl в течение семи дней при комнатной температуре) образуется так называемый «растворимый крахмал», часто применяемый в лабораториях.

Под действием фермента амилазы, содержащегося в особенно большом количестве в проросшем зерне, в слюне и в соке, выделяемом поджелудочной железой, происходит ферментативное осахаривание крахмала — он расщепляется с образованием в конечном счете мальтозы.

В качестве промежуточного продукта при гидролизе крахмала в большем или меньшем количестве образуются полисахариды разного молекулярного веса, называемые декстринами. На первых стадиях гидролиза получаются декстрины, мало отличающиеся от крахмала по размерам молекулы и по свойствам. С йодом они дают синюю или фиолетовую окраску. По мере дальнейшего гидролиза молекулярный вес декстринов понижается, увеличивается их способность восстанавливать фелингову жидкость, и они от йода начинают окрашиваться в темно-бурый, затем — в красный цвет и, наконец, перестают давать реакцию с йодом. В соответствии со свойствами различают следующие виды декстринов:

1) амилодекстрины, окрашивающиеся раствором йода в фиоле-

тово-синий цвет и представляющие собой белые порошки, растворимые в 25-процентном спирте, но осаждаемые 40-процентным спиртом; удельное вращение амилодекстринов колеблется $[\alpha]_D^{20}$ = от + 190° до + 196°;

2) эритродекстрины, окрашивающиеся йодом в красно-бурый цвет; растворяются в 55-процентном этиловом алкоголе, но осаждаются при концентрации его, равной 65%; удельное вращение эритродекстринов $[\alpha]_D^{20} = +194°$; из теплых алкогольных растворов они кристаллизуются в виде сферокристаллов;

3) ахроодекстрины, не окрашивающиеся йодом, растворимые в 70-процентном спирте, при выпаривании горячих спиртовых растворов образуют сферокристаллы; удельное вращение $[\alpha]_D^{20} = +192°$;

4) мальтодекстрины не дают реакции с йодом и не осаждаются спиртом: $[\alpha]_D^{20}$ = от + 181° до + 183°.

Инулин. Высокомолекулярный углевод, растворимый в воде, осаждающийся из водных растворов при добавлении спирта. При гидролизе с помощью кислот образует фруктофуранозу. Содержится в большом количестве в клубнях земляной груши и георгина, в корнях одуванчика, кок-сагыза и цикория, в артишоках, в корнях, листьях и стеблях каучуконосного растения гваюлы (*Parthenium argentatum*). В этих растениях инулин заменяет крахмал. Количество остатков фруктозы, связанных в молекуле инулина глюкозидными связями между 1-м и 2-м углеродными атомами, по-видимому, равно 28. Поэтому строение молекулы инулина можно изобразить следующим образом:

инулин

В растениях, плесневых грибах и дрожжах содержится особый фермент—инулаза, который гидролизует инулин с образованием фруктозы.

Во многих растениях содержатся различные другие полисахариды, дающие при кислотном гидролизе фруктофуранозу. Таковы, например, *ирисин* из корневищ ириса, *аспарагозин* из корней спаржи, целый ряд полифруктозидов из стеблей, листьев и корневищ многих злаков, *секалин* из ржи и т. д. В созревающих зернах злаков — ржи, пшеницы, овса и ячменя — эти полисахариды содержатся в очень большом количестве. Так, например, по данным Кизеля и Кретовича, на ранних стадиях созревания ржаного зерна их содержится до 30% на сухое вещество. По мере созревания зерна они постепенно превращаются в крахмал, что указывает на легкость превращения в растениях фруктозы в глюкозу.

Как показали работы Г. Шлюбаха, полифруктозиды, содержащиеся в листьях, стеблях и зернах злаков, различаются по своим молекулярным весам, растворимости и другим свойствам. Часть из них представляет собой полисахариды 1-го порядка. Так, β-*левулин*, найденный в стеблях ржи, является кристаллическим веществом, соответствующим формуле $C_{12}H_{22}O_{11}$, и содержит, следовательно, два фруктозных остатка; *секалин*, выделенный из листьев и стеблей ржи, имеет молекулярный вес 663, что соответствует содержанию в его молекуле четырех фруктозных остатков.

Содержащийся в зрелых зернах ржи коллоидный полифруктозид *граминин* содержит в молекуле 10 фруктозных остатков. Таким образом, в растении ржи имеют место переходы от фруктозидов с небольшим молекулярным весом к полифруктозидам большого молекулярного веса. Аналогичные переходы от низкомолекулярных кристаллических полифруктозидов к более высокомолекулярным соединениям, вплоть до инулина, имеют место в растении земляной груши.

Таким образом, полифруктозиды образуют в растениях гомологический ряд веществ со все возрастающей величиной молекулы. Крайними членами этого ряда являются β-левулин, представляющий собой дифруктозид, и инулин, в молекуле которого содержится 28 остатков фруктозы.

Характерным свойством всех полифруктозидов, в том числе и инулина, является легкость, с которой они гидролизуются под действием разбавленных кислот.

Гликоген. Полисахарид, содержащийся в тканях тела человека и животных, в грибах и дрожжах, в зерне сахарной кукурузы. Играет важную роль в превращениях углеводов в животном организме и в дрожжах при спиртовом брожении. При кипячении с кислотами образует глюкозу. Гликоген растворяется в горячей воде, образуя опалесцирующие растворы. От йода окрашивается в крас-

ный, коричневый и, реже, в фиолетовый цвет. По своему строению гликоген сходен с амилопектином, хотя и отличается от него бо́льшим молекулярным весом. Молекулы обоих полисахаридов имеют разветвленную структуру, хотя гликоген отличается бо́льшей «компактностью» молекулы. Схема строения молекулы гликогена представлена на рис. 19.

Каллоза. Полисахарид, содержащийся в ситовидных трубках растений. Представляет собою полиглюкозан, молекула которого состоит приблизительно из 100 остатков глюкозы, соединенных между собою 1 — 3 связями. По-видимому, каллоза играет в растениях какую-то важную физиологическую роль, поскольку она легко образуется и с такой же легкостью расходуется. Однако сведения о биохимии и физиологии каллозы весьма скудны.



Рис. 19. Схема строения молекулы гликогена

Лихенин. Полисахарид, содержащийся в лишайниках. Особенно много лихенина содержится в лишайнике, называемом «исландским мхом» (*Cetraria islandica*), а также в лишайниках из рода алектория (*Alectoria ochroleuca*). В этих лишайниках лихенина содержится до 45—50% на сухое вещество.

Лихенин растворяется в горячей воде и в разбавленных водных растворах щелочей, при гидролизе кислотами образует 98—99% D-глюкозы. По-видимому, лихенин представляет собой смесь гомологических полимеров разного молекулярного веса. Установлено, что остатки глюкозы связаны в лихенине двояким образом—на 73% глюкозидными связями между 1-м и 4-м углеродными атомами (как в амилозе) и на 27% — глюкозидными связями между 1-м и 3-м углеродными атомами.

Желудочно-кишечный тракт северных оленей, для которых лишайники являются основным кормом, переваривает лихенин на 78%. При этом сами по себе пищеварительные соки северного оленя не переваривают лихенин; его переваривание происходит благодаря жизнедеятельности бактерий, обитающих в пищеварительном тракте оленей. Организмом человека лихенин не усваивается.

Лихенин может быть использован в качестве желирующего вещества в кондитерской промышленности. Благодаря желирующим свойствам лихенина жители Севера применяют лишайники для приготовления ягодных киселей и желе. А. Л. Курсанов и Н. Н. Дьячков разработали технологическую схему получения из лишайников (путем кислотного гидролиза) глюкозной патоки и кристаллической глюкозы. При этом благодаря высокому содержанию лихенина и других полисахаридов «исландский мох» дает 78% глюкозы.

Клетчатка (целлюлоза). Полисахарид, составляющий главную массу клеточных стенок растений. Клетчатка нерастворима в воде, но лишь набухает в ней. Клетчатка составляет более 50% древесины. В волокнах хлопка она составляет более 90%. При кипячении с крепкой серной кислотой клетчатка нацело превращается в глюкозу. При более слабом гидролизе из клетчатки получается целлобиоза.

В молекуле клетчатки остатки целлобиозы связаны глюкозидными связями в виде длинной цепочки:

остаток целлобиозы *остаток целлобиозы*

Молекулярный вес клетчатки точно не установлен. Полагают, что клетчатка не является индивидуальным веществом, а представляет собой смесь гомологичных веществ. Молекулярные веса клетчатки, полученной из различных источников, весьма сильно колеблются. Это ясно видно из данных, приведенных в табл. 5.

Хотя эти данные ясно свидетельствуют о существенных различиях в молекулярных весах, определяемых различными методами, все же в среднем можно принять, что молекула клетчатки содержит от 1400 до 10 000 глюкозных остатков.

Таблица 5

Молекулярные веса клетчатки различного происхождения

Источник клетчатки	Метод определения молекулярного веса	Молекулярный вес	Число глюкозных остатков в цепочке
Хлопок	По вязкости растворов	330 000	2 020
Рами	По вязкости растворов	430 000	2 660
Еловая древесина	По вязкости растворов	220 000	1 360
Хлопок	В ультрацентрифуге	150 000—500 000	1 000—3 000
Рами	В ультрацентрифуге	1 840 000	11 300

С помощью рентгеноструктурного анализа установлено, что молекулы клетчатки имеют нитевидную форму. Эти нитевидные молекулы соединяются в пучки, называемые мицеллами. Каждая мицелла состоит приблизительно из 60 молекул клетчатки.

Соединение отдельных молекул клетчатки в мицеллы происходит благодаря водородным связям, которые осуществляются как за счет водородных атомов гидроксильных групп клетчатки, так и за счет адсорбированных клетчаткой молекул воды. На рис. 20 показана схема водородных связей между молекулами клетчатки.

Водородные связи в 16—18 раз менее прочны, чем обычная химическая связь. Однако значительное число водородных связей в мицеллах клетчатки способствует повышению прочности этой последней. Взаимное расположение мицелл в клетчатке и имеющиеся между ними пустоты схематически показаны на рис. 21. В настоящее время расположение мицелл в лубяных волокнах и клеточ-

ных стенках изучено с помощью электронного микроскопа. На рис. 22 показано взаимное расположение мицелл клетчатки в клеточной стенке корня кукурузы. Мицеллы образуют определенным образом ориентированную сетчатую структуру. При одревеснении клеточных стенок имеющиеся между мицеллами пустоты заполняются лигнином (см. стр. 188).

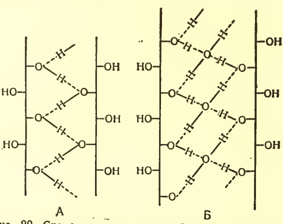


Рис. 20. Схема водородных связей между параллельными молекулами сухой клетчатки (*А*) и увлажненной клетчатки (*Б*)

В молекуле клетчатки имеются свободные гидроксилы, водород которых может быть замещен тем или иным радикалом, например метильным — CH_3 или ацетильным — CH_3CO, с образованием эфирной или сложноэфирной связи. Подобные эфиры клетчатки играют очень большую роль при изучении ее строения. Вместе с тем некоторые из них имеют большое значение в промышленности, как, например, ацетилцеллюлоза или нитроцеллюлоза, используемые для изготовления искусственного волокна, лаков, целлулоида, искусственной кожи и взрывчатых веществ.

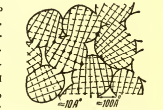


Рис. 21. Схема поперечного сечения лубяного волокна, показывающая взаимное расположение мицелл клетчатки и пустот между мицеллами

Целлюлоза не переваривается желудочно-кишечным трактом человека. Она переваривается лишь жвачными животными, в желудке которых имеются особые бактерии, гидролизующие клетчатку с помощью выделяемого ими фермента целлюлазы.

Гемицеллюлозы (полуклетчатки). Под этим названием объединяют целую большую группу высокомолекулярных полисахари-

дов, не растворяющихся в воде, но растворимых в щелочных растворах. Гемицеллюлозы содержатся в значительном количестве в одревесневших частях растений: соломе, семенах, орехах, древесине, кукурузных початках. Большое количество гемицеллюлоз содержится в отрубях.

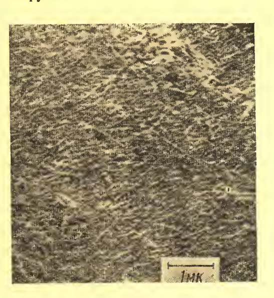


Рис. 22. Электронография клеточной стенки из корня кукурузы (увеличено в 20000 раз)

Гемицеллюлозы гидролизуются кислотами легче, чем клетчатка. При этом они образуют маннозу, галактозу, арабинозу или ксилозу и поэтому соответственно носят названия — маннаны, галактаны и пентозаны (арабан или ксилан).

Маннан, содержащий от 200 до 400 остатков маннозы в молекуле, найден в дрожжах. Некоторое количество маннанов содержится в древесине хвойных деревьев (от 2 до 7%). Водорастворимые маннан и галактан выделяются мицелием плесневых грибов, принадлежащих к роду *Penicillium*.

Галактаны широко распространены в растениях и входят в состав клеточных стенок соломы, древесины и многих семян. Типичным представителем этой группы полисахаридов является галактан, содержащийся в семенах люпина. Как видно из приведенной ниже формулы, в его молекуле содержится около 120 остатков галактопиранозы:

около 120

Ксиланы содержатся в значительных количествах в соломе (до 28%), древесине (в дубовой до 25%) и растительных волокнах.

Основным структурным элементом ксиланов является линейный или возможно слегка разветвленный полисахарид, образованный остатками β-ксилопиранозы, соединенными между собою 1,4-связями:

Обычно ксилан, содержащийся в каком-либо растительном объекте, представляет собой смесь различных полисахаридов с близкими молекулярными весами (обычно от 50 до 200 ксилозных остатков), но отличающихся природой сахарного остатка в «ответвлениях» молекулы. Так, например, ксилан из пшеничной муки построен следующим образом:

$$Кс_n1 \ldots 4Кс_n1 \ldots 4Кс_n1 \ldots 4Кс_n1 \ldots 4Кс_n$$

23 3

1 1 1

Арф Арф Арф

Обозначения: $Кс_n$ — остаток ксилопиранозы; Арф — остаток арабофуранозы.

Аналогичное строение имеет, по-видимому, также пентозан ячменного зерна. Таким образом, при гидролизе этих гемицеллюлоз получается арабиноза и ксилоза.

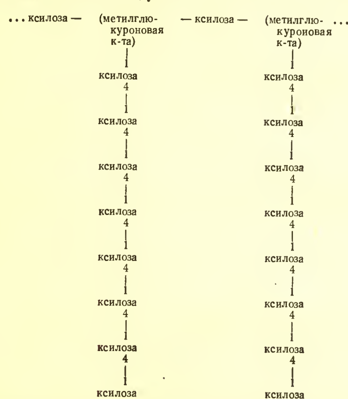
В некоторых растительных тканях содержатся также метилпентозаны, дающие при гидролизе с кислотами метилпентозы.

При продолжительном кипячении с крепкой соляной кислотой (12—14%) пентозаны образуют фурфурол, а метилпентозаны — метилфурфурол:

фурфурол

метилфурфурол

Многие гемицеллюлозы наряду с пентозанами содержат также полиурониды, т. е. производные полисахаридов, образующие при гидролизе уроновые кислоты. Такие полиуронидные гемицеллюлозы содержат либо остатки глюкуроновой кислоты и ксилозы, либо же остатки галактуроновой кислоты и арабинозы. Так, например, пшеничная солома содержит гемицеллюлозу, состоящую из уроновой кислоты, арабинозы и ксилозы примерно в следующих соотношениях 1 : 1 : 23. Гемицеллюлоза, содержащаяся в кукурузных кочерыжках, состоит на 5,1% из остатков глюкуроновой кислоты и на 94,8% из остатков ксилозы. По-видимому, остатки уроновых кислот содержатся в молекуле гемицеллюлозы в виде метиловых эфиров. Гипотетическая схема строения молекулы полиуронидной гемицеллюлозы следующая:



По всей вероятности, в растительном организме легко могут осуществляться превращения галактана в соответствующий полиуронид и, далее, этого последнего в пентозан. Первое из этих превращений происходит путем окисления галактана в полигалактуроновую кислоту. Второй этап заключается в декарбоксилировании полигалактуроновой кислоты и образовании арабана. Приводим схему подобных превращений:

галактан

окисление

полигалактуроновая кислота

декарбоксилирование

арабан

В опытах, проведенных на растениях пшеницы с помощью изотопной методики, было показано, что ксилан особенно легко образуется из глюкуроновой кислоты. Результаты этих опытов подтверждают представление о том, что декарбоксилирование галактуроновой и глюкуроновой кислот (или же их полимеров) является важнейшим путем образования арабана и ксилана в растительном организме.

Слизи и гумми. К этой группе коллоидных полисахаридов принадлежат растворимые в воде углеводы, образующие чрезвычайно вязкие и клейкие растворы. Типичными представителями этой группы являются гумми, выделяемые в виде наплывов вишневыми, сливовыми или миндальными деревьями в местах повреждения ветвей и стволов. Слизи содержатся в большом количестве в льняных семенах и в зерне ржи. Именно их наличием объясняется высокая вязкость употребляемого в медицине отвара из льняных семян или же водной болтушки ржаной муки.

При исследовании состава полисахаридов вишневого клея было найдено, что они состоят из остатков галактозы, маннозы, арабинозы, D-глюкуроновой кислоты и незначительного количества ксилозы. Изучение слизей ржаного зерна показало, что они почти

на 90% состоят из пентозанов. Эти слизи чрезвычайно сильно набухают в воде и дают весьма вязкие растворы.

Как видно из рис. 23, их вязкость значительно выше вязкости растворов таких веществ, как желатина, крахмальный клейстер или белок. При кислотном гидролизе слизи ржаного зерна образуют ксилозу, арабинозу и незначительное количество галактозы.

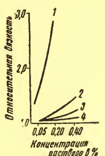


Рис. 23. Вязкость водных растворов ржаных слизей и других веществ:

1 — слизи ржаного зерна, *2* — желатина, *3* — крахмальный клейстер, *4* — яичный альбумин

Пектиновые вещества. Пектиновые вещества представляют собой высокомолекулярные соединения углеводной природы, содержащиеся в большом количестве в ягодах, фруктах, клубнях и стеблях растений. В растениях пектиновые вещества присутствуют в виде нерастворимого протопектина, вероятно, в соединении с арабаном клеточной стенки. Протопектин переходит в растворимый пектин лишь после обработки разбавленными кислотами или под действием особого фермента протопектиназы. Из водного раствора растворимый пектин осаждается спиртом или 50-процентным ацетоном. Характерным и важным свойством пектина является его способность давать студни в присутствии кислоты и сахара. Это свойство широко используется в кондитерской промышленности при производстве желе, джема, мармелада, пастилы и фруктовых карамельных начинок.

Образование пектинового студня происходит в присутствии 65—70% сахара (сахарозы или гексозы); эта концентрация приблизительно соответствует насыщенному раствору сахарозы. В образующемся студне содержится от 0,2 до 1,5% пектина. Лучше всего образование пектиновых студней происходит при pH 3,1—3,5.

Пектин различного происхождения различается по своей способности к желированию, по содержанию золы, метоксильных групп CH_3O — . Растворимый пектин представляет собой полисахарид, состоящий из соединенных между собой остатков галактуроновой кислоты, присутствующей в нем в виде метилового эфира:

При действии на растворимый пектин разбавленных щелочей или фермента пектазы метоксильные группы легко отщепляются — образуется метиловый спирт и свободная пектиновая кислота, которая представляет собой полигалактуроновую кислоту. Пектиновая кислота легко дает соли — пектаты. В виде пектата кальция она легко осаждается из раствора, что используется для количественного определения пектиновых веществ. Пектиновая кислота в присутствии сахара не способна образовывать студни подобно растворимому пектину. Поэтому при промышленном получении пектина стараются вести процесс таким образом, чтобы по возможности избежать его щелочного или ферментативного гидролиза, вызывающего снижение желирующей способности пектина.

Молекулярный вес пектина различен в зависимости от его происхождения. Для пектина из плодов яблок, груш и слив молекулярный вес колеблется от 25 000 до 35 000; близкие величины найдены для пектина сахарной свеклы (20 000—25 000). Пектин из плодов апельсина имеет молекулярный вес от 40 000 до 50 000.

Пектиновые вещества играют важную роль при созревании, хранении и промышленной переработке различных плодов и овощей. Во время развития плодов протопектин отлагается в клеточных стенках и может накапливаться в плодах в значительных количествах, как, например, в грушах, яблоках и плодах цитрусовых культур. Созревание плодов характеризуется превращением протопектина в растворимый пектин. Так, у яблок содержание пектиновых веществ достигает максимума приблизительно к периоду уборки плодов. При последующем хранении плодов при температурах, близких к 1°C, содержание протопектина постепенно понижается и происходит накопление растворимого пектина. По данным Ф. В. Церевитинова, содержание пектиновых веществ в плодах и овощах характеризуется следующими величинами (в %):

Яблоки	0,82 — 1,29
Абрикосы	1,03
Слива	0,96 — 1,14
Черная смородина	1,52
Клюква	0,5 — 1,30
Морковь	2,5
Сахарная свекла	2,5

Пектиновые вещества играют также важную роль при обработке растительных волокон, например льна. Процесс мочки льна основан на том, что под действием особых микроорганизмов, выделяющих ферменты, гидролизующие пектиновые вещества, происходит мацерация стеблей льна и отделение волокон друг от друга.

Агар-агар. Высокомолекулярный полисахарид, содержащийся в некоторых морских водорослях, принадлежащих к родам *Gelidium, Gracilaria, Pterocladia* и *Ahnfeltia*.

В СССР агар-агар добывают из багряной водоросли анфельции, произрастающей в Белом, Баренцовом и Балтийском морях, а также в водоемах Дальнего Востока.

В холодной воде агар-агар нерастворим, но растворяется в ней при нагревании. Водные растворы его при охлаждении застывают в виде студня.

Агар-агар применяется в бактериологии для приготовления твердых питательных сред, в кондитерской промышленности для изготовления различных желе, пастилы, мармелада, джемов.

По-видимому, агар-агар представляет собою смесь по крайней мере двух полисахаридов — агарозы и агаропектина. Агароза, по всей вероятности, состоит из остатков D- и L-галактопиранозы, соединенных между собою 1,3-глюкозидными связями. Гораздо меньше известно о структуре агаропектина, который, по-видимому, состоит из цепочек, образуемых остатками D-галактопиранозы, некоторые из которых связаны сложноэфирной связью с остатками серной кислоты.

В багряной водоросли филлофоре, произрастающей в особенно больших количествах в Черном море, содержатся так называемые *агароид* и *агароидин*, так же, как и агар, являющиеся желирующими веществами углеводной природы, но отличающиеся от него по своей химической природе. Из багряной водоросли *Chondrus* получают желеобразное вещество *каррагинин*. Химическое строение агароида, агароидина и каррагинина недостаточно выяснено. Каррагинин представляет собою полисахарид, состоящий, главным образом, из остатков галактопиранозы, соединенных между собою α-1,3-глюкозидными связями; большая часть остатков галактопиранозы при четвертом углеродном атоме связана сложноэфирной связью с остатком серной кислоты. Каррагинин имеет, по-видимому, разветвленную структуру и состоит из компонентов с различным молекулярным весом, лежащим в пределах от 358 000 до 700 000.

Альгиновая кислота. Этот полисахарид является составной частью клеточных стенок многих водорослей, принадлежащих к родам *Macrocystis, Laminaria* и *Fucus*. Альгиновая кислота, по-видимому, является аналогом пектиновой кислоты, но состоит из остатков D-маннуроновой кислоты, связанных β-глюкозидными связями, расположенными между 1-м углеродным атомом одного остатка маннуроновой кислоты и 4-м углеродным атомом другого. В водорослях альгиновая кислота присутствует в виде солей и содержится в них в количестве 30% от сухого веса водорослей. Альгиновая кислота и ее соли, главным образом натриевая, широко применяются в качестве эмульгирующих средств; особенно широко они применяются в качестве стабилизатора при производстве мороженого, а также в качестве стабилизатора различных технических эмульсий.

Полисахариды бактерий. В процессе развития бактерии образуют значительные количества полисахаридов, которые либо содержатся в цитоплазме, либо отлагаются в виде запасов питательных веществ, либо, наконец, находятся на поверхности клетки, образуя слизистый защитный слой, который микробиологи называют капсулой. Часто капсула растворяется в жидкости, в которой развиваются бактерии. У патогенных бактерий капсула является в первую очередь средством защиты клетки от фагоцитов. У почвенных бактерий, подобных некоторым азотфиксирующим бактериям, вещества, образующие капсулу, по-видимому, в какой-то мере защищают клетки от почвенных простейших. Типичными представителями бактериальных полисахаридов являются так называемые декстраны. Они представляют собой группу полиглюкозидов, образуемых из тростникового сахара различными видами *Leuconostoc*. Строение главной цепочки молекулы *декстрана* схематически может быть представлено следующим образом:

Декстраны являются водорастворимыми полисахаридами с удельным вращением водных растворов около $+200°$. Они обладают молекулярным весом порядка около миллиона и более, причем главные цепи в их молекулвх могут иметь линейную или разветвленную структуру. За последнне годы декстраны прнвлекают к себе внимание в связи с тем, что продукты их гидролиза с молекулярным весом 70 000—90 000 применяются в качестве заменнтелей плазмы кровн. Некоторые непатогенные микроорганизмы при развитии на рвстворах сахврозы обрвзуют полнфруктозиды, называемые леванами. Значительные количества леванов образуют, например, некоторые виды стрептококка и сенная палочка *Bacillus subtilis*, вызывающая так называемую тягучую болезнь хлеба. Основным структурным элементом леванов является цепочка нз метоксилированных остатков фруктофуранозы:

Многие леввны образуются бактериями, патогенными для растений, например *Bacillus pruni*, однако возможная роль этих полисахаридов в развитии заболевания не ясна. Слизистые полисахариды, подобные леванам и декстранам, образуют также почвенные бактерии, причем, по-видимому, эти углеводы играют определенную роль в агрегировании почвы и сохранении в ней влаги. Своеобразное строение имеют капсульные полисахариды азотфикснрующих бактерий, например клубеньковых *Rhizobium radicicola*. Эти полисахариды нвряду с остатками глюкопиранозы содержат остатки глюкуроновой кислоты:

В заключение необходимо подчеркнуть, что некоторые так называемые специфические полисахариды бактерий играют чрезвычайно важную роль в явлениях иммунитета животных и человека.

ЛИТЕРАТУРА

Богнар Р. Азотсодержащие производные углеводов, «Успехи химии», т. 21, вып. 6, стр. 734, 1952.

Гэворт В. Н. Строение углеводов. Сиабтехиздат, М., 1934.

Жданов Ю. А. и Дорофеенко Г. Н. Химические превращения углеродного скелета углеводов. Изд. АН СССР, М., 1962.
Кизель А. Р. О нахождении маннита в заразихе и об его происхождении. «Ж. эксперим. биол. и мед.», № 5, стр. 148, 1926.
Кизель А. Р. и Вобликова Т. В. Маннит в обмене бурых водорослей. «Бюлл. Гос. океанограф. ин-та», вып. 3, стр. 3, 1932.
Князиничев М. И. Биохимия пшеницы. Сельхозгиз., М., 1951.
Кострубин М. В. Генезис пектиновых веществ и гемицеллюлоз в стеблях льна. «Уч. зап. Орловск. гос. пед. ин-та». Сер. естествозн. и химии, вып. 2, стр. 113, 1947.
Кургатников М. М. (в сотрудничестве с А. И. Лебедевой). Структурные отличия крахмальных зерен горохов и их изменения при созревании семян. «Биохимия», т. 5, вып. 4, стр. 417, 1940.
Курсанов А. Л. и Дьячков Н. Н. Лишайники и их практическое использование. Изд. АН СССР, М., 1945.
Никитин Н. И. Химия древесины. Изд. АН СССР, М., 1951.
Роговин З. А. и Шорыгина Н. Н. Химия целлюлозы и ее спутников. Госхимиздат, М. — Л., 1953.
Степаненко Б. Н. Цветная реакция полисахаридов с йодом. «Успехи химии», т. 16, вып. 6, стр. 708, 1947.
Степаненко Б. Н. О некоторых достижениях в области изучения углеводов. «Успехи химии», т. 28, вып. 5, стр. 521, 1959.
Степаненко Б. Н. Резервные галактоманнаны и глюкоманнаны семян, луковиц и корневищ. «Успехи химии», т. 30, стр. 626, 1961.
Терентьев А. П. и Гурвич С. М. Приоритет А. А. Колли в установлении строения глюкозы. «Успехи химии», т. 19, вып. 1, стр. 128,1950.
Углеводы и углеводный обмен. Изд. АН СССР, М., 1962.
Френкель С. Я. Успехи в области изучения строения крахмала. «Успехи химии», т. 19, вып. 4, стр. 489, 1950.
Advances in Carbohydrate Chemistry, Vol. 1—18, Acad. Press Inc., New York, 1945—1963.
Die Chemie der Pflanzenzellwand. Herausgegeben von E. Treiber, Springer V-g, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1957.
Colloque international sur la biochimie des glucides. «Bull. Soc. chim. biol.», 42, No 12, 1333, 1961.
Deuel H. and Stutz E., Pectic Substances and Pectic Enzymes. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 20, 341, 1958.
Eschrich W. Untersuchungen über den Ab-und Aufbau der Callose, «Z. Bot.», 49, 153, 1961.
Hirst E. L. The Structure of Polysaccharides. «The Structure and Biosynthesis of Macromolecules», Edited by D. J. Bell a. J. K. Grant, Cambridge University Press, 1961.
Kent P. W. a. Whitehouse M. H. Biochemistry of the Aminosugars. Butterworth, London, 1955.
Micheel F. Chemie der Zuckerarten und Polysaccharide. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1956.
Pigman W. The Carbohydrates. Chemistry, Biochemistry, Physiology. Academic Press, New York, 1957.
Smith F. a. Montgomery R. The Chemistry of Plant Gums and Mucilages and Some Related Polysaccharides. Reinhold Publishing Corporation, New York, 1959.
Sonka J. Pentosy. Chemie, fysiologie a klinika. SZN, Praha, 1956.
Stacey M. a. Barker S. Polysaccharides of Micro-Organims. Oxford University Press, 1960.
Stanek J. Černý M., Pacák J. Oligosacharidy. N.Č.A.V., Praha, 1962.
Vystrčil A. Rostlinne glykosidy. N.Č.A.V., Praha, 1955.
Young E. G. Carrageenin and Related Polysaccharide Sulphates. «Colloq. internat. Centre nat. rech. scient.», N 103, 173, 1961.

Глава III

ЖИРЫ, ЛИПОИДЫ И РАСТВОРИМЫЕ В ЖИРАХ ПИГМЕНТЫ

Жиры и целый ряд веществ, обычно называемых липоидами, можно объединить в одну группу; их общим свойством является гидрофобность и нерастворимость в воде. В настоящее время жиры и жироподобные вещества (липоиды) объединяются общим термином *липиды*. Вещества этой группы растворяются в различных органических растворителях: эфире, бензине, бензоле, хлороформе. Характерной особенностью таких растворителей, так же как и веществ, принадлежащих к указанной группе, является высокое содержание в них гидрофобных радикалов и группировок.

К этой группе могут быть отнесены также и растворимые в жирах пигменты: каротиноиды и хлорофилл.

Липоиды играют чрезвычайно важную роль в живой протоплазме. Они участвуют в регулировании проницаемости клетки для поступающих в нее веществ. Они играют также важную роль в адсорбционных процессах, разыгрывающихся в протоплазме. Благодаря многим веществам, принадлежащим к группе липоидов, в протоплазме и на поверхности различных ее форменных элементов создается определенная ориентировка молекул. Прекрасным примером того, каким образом молекулы липоидов могут располагаться строго определенным образом на поверхности раздела двух фаз, является поведение жирной кислоты на поверхности воды. Так, например, входящая в состав растительных масел олеиновая кислота состоит из 14 гидрофобных групп — CH_2 —, двух также гидрофобных групп — CH =, одной еще более гидрофобной метильной группы — CH_3 и одной весьма гидрофильной группы — COOH. Если нанести капельку этой кислоты на поверхность воды в стакане, то она растечется очень тонким слоем и займет определенную площадь. Изучение этой пленки показывает, что в ней молекулы олеиновой кислоты расположены определенным образом по отношению к поверхности воды. Это объясняется тем, что молекулы олеиновой кислоты являются полярными молекулами: один конец такой молекулы обладает ярко выраженной гидрофильностью, а противоположный конец — столь же ярко выраженной гидрофобностью. Вследствие этого вода будет стремиться вытолкнуть гид-

рофобный конец каждой молекулы олеиновой кислоты и, наоборот, притянуть гидрофильный ее конец. В результате молекулы олеиновой кислоты расположатся на поверхности воды слоем, толщина которого равна длине молекулы. Такой слой называется мономолекулярным слоем. В нем молекулы олеиновой кислоты расположены в виде как бы частокола с обращенными к воде карбоксильными группами.

Изучаемые здесь вещества разделяются на следующие группы, различающиеся по своему химическому составу, строению и роли, которую они играют в живой клетке. Эти группы таковы:

1) жиры,
2) воска,
3) фосфатиды,
4) каротиноиды и хлорофилл (растворимые в жирах пигменты),
5) стериды.

ЖИРЫ

Жиры являются запасными веществами. Они накапливаются в очень больших количествах в семенах и плодах многих растений, используемых в жировой промышленности для получения растительных жиров, называемых маслами. Среднее содержание жира в семенах и плодах важнейших культурных растений следующее:

Культура	*Содержание жира*, %	*Культура*	*Содержание жира*, %
Соя	20	Клещевина	60
Арахис	49	Кунжут	53
Подсолнечник	24 — 38	Мак	45
Лен	29	Маслина	50
Конопля	30	Пшеница, рожь, ячмень	2
Хлопчатник	23	Кукуруза	5
Горчица	29 — 36	Горох, фасоль	2

По своему химическому строению жиры представляют собой смесь сложных эфиров (глицеридов) трехатомного спирта глицерина и высокомолекулярных жирных кислот и построены по типу:

$$
\begin{array}{l}
CH_2-O-\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}-R_1 \\
| \\
CH-O-\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}-R_2 \\
| \\
CH_2-O-\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}-R_3
\end{array}
$$

где R_1, R_2, R_3 обозначают радикалы жирных кислот.

Жирными кислотами, наиболее часто входящими в состав жиров, являются следующие:

пальмитиновая $CH_3—(CH_2)_{14}—COOH$;

стеариновая $CH_3—(CH_2)_{16}—COOH$;

олеиновая $CH_3—(CH_2)_7—CH{=}CH—(CH_2)_7—COOH$;

линолевая $CH_3—(CH_2)_4—CH{=}CH—CH_2—CH{=}CH—(CH_2)_7—COOH$;

линоленовая $CH_3CH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7—COOH$.

Все жирные кислоты, входящие в состав жиров, делятся на две группы: насыщенные, т. е. не содержащие двойных связей, и ненасыщенные, или непредельные, содержащие двойные связи.

Как видно из приведенных выше формул, к насыщенным кислотам относятся пальмитиновая и стеариновая, а к ненасыщенным — олеиновая, линолевая и линоленовая кислоты. Весьма существенно, что все встречающиеся в растительных маслах жирные кислоты содержат четное число углеродных атомов.

Свойства жиров определяются качественным составом жирных кислот, их количественным соотношением, процентным содержанием свободных, не связанных с глицерином жирных кислот, соотношением различных глицеридов и т. п.

Растительные жиры или масла богаты непредельными жирными кислотами, вследствие чего в подавляющем большинстве случаев они являются жидкими при обыкновенной температуре. Так, например, как это видно из табл. 6, оливковое масло представляет собой, в основном, триолеат, т. е. в нем все три гидроксильные группы глицерина связаны с остатками олеиновой кислоты. Животные жиры являются при обыкновенной температуре твердыми, так как они содержат главным образом насыщенные жирные кислоты. Так, например, говяжье сало состоит, в основном, из глицеридов пальмитиновой и стеариновой кислот. Среди растительных жиров твердыми при обыкновенной температуре являются кокосовое масло (температура плавления 20—28°С) и масло бобов какао (температура плавления 30—34°С). В состав последнего входят, в основном, пальмитиновая (35%) и стеариновая (40%) кислоты. Содержание

Таблица 6

Содержание в некоторых жирах кислот (в % к их общему количеству)

Кислота	Хлопковое масло	Соевое масло	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Говяжье сало	Баранье сало
Пальмитиновая . .	20	6	—	9	28	23
Стеариновая . . .	2	4	9	2	24	26
Олеиновая	31	32	39	82	44	39
Линолевая	40	49	46	4	2	3

важнейших жирных кислот в некоторых жирах указано в табл. 6.

Масла некоторых растений содержат значительные количества специфических жирных кислот, характерных именно для данных растений. Так, например, масла растений из семейства крестоцветных — рапса и горчицы — содержат от 42 до 55% ненасыщенной эруковой кислоты:

$$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_{11}COOH.$$

Масло клещевины содержит рицинолевую кислоту — оксикислоту, имеющую гидроксильную группу у 12-го углеродного атома:

$$CH_3(CH_2)_5CHOHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH.$$

Масло плодов тунгового дерева, являющееся ценным сырьем для лакокрасочной промышленности, приблизительно на 80% состоит из олеостеариновой кислоты, имеющей следующее строение:

$$CH_3(CH_2)_3CH{=}CHCH{=}CHCH{=}CH(CH_2)_7COOH.$$

Своеобразная конфигурация олеостеариновой кислоты придает тунговому маслу его специфические свойства — способность к полимеризации и затвердеванию при нагревании выше 282°C.

Плоды некоторых тропических деревьев и кустарников, принадлежащих к семейству *Flacourtiaceae*, содержат масла, в состав которых входят две ненасыщенных жирных кислоты, имеющих циклическое строение:

гиднокарповая кислота

```
CH══CH
|      \
|       CH(CH2)10 · COOH
|      /
CH2—CH2
```

хаульмугровая кислота

```
CH══CH
|      \
|       CH(CH2)12 · COOH
|      /
CH2—CH2
```

Наличием гидиокарповой и хаульмугровой кислот в маслах указанных выше тропических растений объясняется лечебное действие этих масел, применяемых для лечения проказы. Гидиокарповая и хаульмугровая кислоты оказывают также угнетающее действие на развитие туберкулезной бактерии.

В листьях (хлоропластах) некоторых растений и в некоторых фотосинтезирующих бактериях найдены заметные количества глицеридов, которые наряду с остатками глицерина и жирной кислоты содержат также один или два остатка галактозы. Примером таких галактолипоидов может служить олеил-дигалактозил-моноглицерид, имеющий следующее строение:

```
        CH2OH
        |
   HO   C——————O   H
     \ / H      \ /
      C          C
     H \ OH   H /  \
   H    C——————C    O——CH2
        |      |         |
        H      OH   HO   C——————O   O——CH2
                      \ / H      \ /    |
                       C          C    HCOH
                      H \ OH   H /  H   |
                    H    C——————C      H2CO—CO
                         |      |            |
                         H      OH           C17H33
```

В хлоропластах зеленой одноклеточной водоросли *Chlorella* содержится глицерид, состоящий из двух остатков жирных кислот, глицерина и сульфоглюкозы. Этот растительный сульфолипоид имеет следующее строение:

```
      H2C—SO3H
       |
  H    C————————O    H
  |  / H         \   |
  C    OH    H     C
  |  \ |     |   / |
 HO    C—————C     O—CH2
       |     |       |
       H     OH     HCO—CO—C17H29
                     |
                    H2CO—CO—C17H29
```

Имеющиеся экспериментальные данные указывают на то, что галактолипоиды и сульфолипоид играют какую-то важную роль в структуре хлоропластов и в процессе фотосинтеза.

Жидкие растительные масла превращают в твердые жиры путем гидрогенизации, которая заключается в присоединении водорода по месту двойных связей непредельных жирных кислот. Гидрогенизацию производят с помощью специальных катализаторов. Гидрогенизованные растительные масла широко используются пищевой промышленностью для изготовления маргарина.

При действии кислот и щелочей на жиры происходит расщепление эфирной связи — так называемое омыление жира, сопровождающееся образованием свободного глицерина и жирных кислот или же их солей, называемых мылами.

Свойства данного жира характеризуются так называемыми его числами — кислотным числом, йодным числом, числом омыления и др.

Кислотным числом называется количество миллиграммов едкого кали, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в одном грамме жира. Кислотное число является весьма важным показателем свойств и состояния жира, так как оно может легко увеличиваться при хранении жира или богатых жиром пищевых продуктов.

Йодным числом называется количество граммов йода, связываемое 100 *г* данного жира. Поскольку присоединение йода происходит по месту двойных связей, имеющихся в ненасыщенных жирных кислотах, йодное число дает представление о содержании в жире этих ненасыщенных кислот. Чем выше йодное число, тем более жидок данный жир, тем более он пригоден для приготовления лаков, красок и олифы и тем менее он пригоден в пищу. Чем выше йодное число, тем легче окисляется данный жир.

Число омыления показывает количество миллиграммов едкого кали, необходимое для нейтрализации как свободных,

так и связанных с глицерином жирных кислот, получающихся при омылении 1 г масла.

Жиры растворимы в эфире, сероуглероде, бензине, дихлорэтане, петролейном эфире, частично в кипящем спирте, но не растворимы в воде, с которой образуют эмульсии.

Жиры при длительном хранении приобретают неприятный вкус и запах — прогоркают. Прогоркание жиров может вызываться чисто химическими реакциями, связанными с действием света, воздуха и воды. Однако, по-видимому, в процессе прогоркания жиров участвуют также некоторые окислительные ферменты, в частности фермент липоксидаза (липоксигиназа).

Наиболее простой случай прогоркания, часто наблюдающийся при хранении коровьего масла и маргарина, заключается в простом омылении жира. Освобождающаяся при этом свободная масляная кислота вызывает появление у жира свойственного этой кислоте неприятного запаха.

Иногда прогоркание жиров зависит от жизнедеятельности микроорганизмов. В этом случае неприятный запах и вкус жира обусловлен появлением кетонов, образующихся при окислении отщепленных жирных кислот. Однако нужно отметить, что подобного рода кетонное прогоркание наблюдается только у жиров, содержащих жирные кислоты с числом углеродных атомов в молекуле от 6 до 12. При кетонном прогоркании, например, из капроновой кислоты $CH_3(CH_2)_4COOH$ образуется метилпропилкетон $CH_3(CH_2)_2 \cdot COCH_3$.

Предполагается, что образованию кетонов предшествует образование кетокислот, которые затем, отщепляя углекислый газ (декарбоксилируясь), дают кетоны:

$$\underset{\text{жирная кислота}}{R \cdot CH_2CH_2COOH} \rightarrow \underset{\text{кетокислота}}{R \cdot COCH_2COOH} \rightarrow \underset{\text{кетон}}{R \cdot COCH_3} + CO_2.$$

Однако наиболее распространенным типом прогоркания жиров является прогоркание, обусловленное окислением ненасыщенных жирных кислот кислородом воздуха. При этом кислород присоединяется по месту двойных связей, образуя перекиси:

$$\begin{array}{ccc} R-\underset{|}{\overset{}{C}}=\underset{|}{C}-R_1 + O_2 \rightarrow & R-\overset{O-O}{\underset{|}{\overset{|}{C}}}-\underset{|}{\overset{|}{C}}-R_1 \\ \;\;\;H\;\;\;H & \;\;\;H\;\;\;H \end{array}$$

В результате дальнейшего разложения образовавшихся перекисей жирных кислот получаются альдегиды, придающие жиру неприятный запах и вкус. Подобного рода окислительное прогоркание жиров или содержащих жиры продуктов (круп, концентратов) ускоряется присутствием небольших количеств влаги, повышенной температурой и светом. В отсутствии кислорода оно не идет; таким образом, при хранении жира в вакууме он не будет подвергаться прогорканию. Практически для предотвращения окисли-

тельного прогоркания жиров к ним прибавляют так называемые антиокислители, которые, будучи добавлены в весьма малых количествах, задерживают прогоркание. Многие из этих антиокислителей являются фенолами. К числу наиболее активных антиокислителей принадлежит витамин Е (токоферол).

ВОСКА́

Воска́ представляют собой жироподобные вещества, твердые при обычной температуре. Они являются сложными эфирами, образованными жирными кислотами и высокомолекулярными одноатомными спиртами жирного (реже ароматического) ряда. Природные воска́ содержат также некоторое количество свободных жирных кислот и упомянутых высокомолекулярных спиртов, а также углеводородов парафинового ряда. Воска́ покрывают тонким слоем листья, стебли, стволы и плоды растений. Восковой налет на плодах винограда, яблок, груш и слив предохраняет их от смачивания водой, высыхания и поражения микроорганизмами. Опыты показали, что удаление воскового слоя с поверхности плодов приводит к тому, что они гораздо быстрее подвергаются порче при хранении. В состав восков входят как обычные жирные кислоты, содержащиеся в жирах, — пальмитиновая, стеариновая, олеиновая и другие, так и жирные кислоты, характерные для восков, имеющие гораздо бо́льшие молекулярные веса — карнаубовая $C_{24}H_{48}O_2$, церотиновая $C_{27}H_{54}O_2$, монтановая $C_{29}H_{58}O_2$ и др.

Среди высокомолекулярных спиртов, входящих в состав восков, можно отметить следующие, наиболее изученные:

цетиловый спирт $CH_3(CH_2)_{14}CH_2OH$
н-гексакозанол $CH_3(CH_2)_{24}CH_2OH$
н-октакозанол $CH_3(CH_2)_{26}CH_2OH$
н-триаконтанол $CH_3(CH_2)_{28}CH_2OH$

Углеводороды, входящие в состав восков, в некоторых из них составляют главную часть воскового налета. Так, например, восковой налет на листьях капусты состоит главным образом из парафинового углеводорода нонакозана $C_{29}H_{60}$ и его производного, содержащего карбонильную группу $= CO$, нонакозанона. В табаке найдены углеводороды гептакозан $C_{27}H_{56}$ и *н*-триаконтан $C_{31}H_{64}$. Довольно подробно исследован состав воскового налета на поверхности виноградных ягод. В нем найдена свободная пальмитиновая кислота, ее эфир с высокомолекулярным спиртом энокапролом, цериловый спирт $C_{26}H_{53}OH$, мирициловый спирт $C_{31}H_{63}OH$, церотиновая кислота.

Восковой налет на поверхности кожицы яблок содержит парафиновые углеводороды нонакозан и гептакозан, а также высокомолекулярные спирты — гексакозанол, октанозанол и триаконтанол.

Углеводороды воска кожицы яблок на 99% состоят из нонакозана, а фракция высших спиртов имеет следующий состав: тетракозанол (C_{24}) — 17,2%, гексакозанол (C_{26}) — 37,0%, октакозанол (C_{28}) — 34,0% и триаконтанол (C_{30}) — 9,6%.

Значительное количество воска выделяется на поверхности листьев пальмы *Corypha ceriphera*, произрастающей в Южной Америке. Этот воск, называемый карнаубским воском, имеет желтый или зеленоватый цвет, очень тверд и ломок, плавится при 83—90°. Идет на выделку свечей.

Среди животных восков имеют наибольшее значение пчелиный воск и воск, содержащийся в овечьей шерсти (ланолин). Различные воска широко применяются при изготовлении свечей, помад, мыла, разных пластырей.

ФОСФАТИДЫ

Фосфатиды так же, как и жиры, являются глицеридами, т. е. сложными эфирами глицерина и жирных кислот. От настоящих жиров они отличаются тем, что содержат фосфорную кислоту и связанное с ней азотистое основание.

Общая формула фосфатидов имеет следующий вид:

$$
\begin{array}{l}
CH_2-O-C(=O)-R_1 \\
| \\
CH-O-C(=O)-R_2 \\
| \\
CH_2-O-P(=O)(OH)-OB
\end{array}
$$

где OCR_1 и OCR_2 представляют собой остатки различных жирных кислот — линолевой, линоленовой, пальмитиновой, стеариновой и т. д., а B — остаток азотистого основания.

Из азотистых оснований, входящих в состав фосфатидов, наиболее распространенным является *холин*, представляющий собой сильное основание, легко растворимое в воде и спирте, но не растворяющееся в эфире. Холин является производным гидрата окиси аммония NH_4OH, в котором три водородных атома заменены метильными группами — CH_3, а четвертый — остатком этилового спирта:

$$
(H_3C)_3N(OH)-CH_2-CH_2-OH
$$

Холин играет большую роль в обмене веществ, так как под действием соответствующих ферментов он может передавать содержащиеся в нем метильные группы другим веществам.

Фосфатиды, состоящие из остатков глицерина, жирных кислот, фосфорной кислоты и холина, носят название л е ц и т и н о в. Фосфатиды, называемые к е ф а л и н а м и, отличаются от лецитинов тем, что в них вместо холина содержится аминоэтиловый спирт $CH_2OH - CH_2 - NH_2$, называемый *коламином.*

Лецитин и кефалин при действии кислот или соответствующих ферментов расщепляются на свои составные части, причем, если гидролиз провести таким образом, чтобы отщепить холин или коламин и жирные кислоты, то образующийся при этом остаток носит название глицеринфосфорной кислоты $CH_2OH - CHOH - CH_2O - PO(OH)_2$, представляющей собой в свободном виде сироп, образующий кристаллические соли кальция и бария.

Разнообразие лецитинов и кефалинов зависит от природы содержащихся в них остатков жирных кислот и от места их связи с остатками глицерина.

Молекула лецитина так же, как и молекула какой-либо жирной кислоты, обладает полярностью. Тот ее конец, на котором расположен остаток холина или коламина, обладает гидрофильными свойствами, в то время как другой ее конец, на котором располагаются остатки жирных кислот, обладает ярко выраженными гидрофобными свойствами. Этим обстоятельством объясняется то, что лецитины, ориентируясь строго определенным образом на границе раздела двух фаз, играют важную роль в структуре протоплазмы. Значительная часть фосфатидов содержится в протоплазме в виде так называемых липопротеидов, представляющих собой соединения липоидов с белками.

В растениях найдены также фосфатиды, не содержащие азотистых оснований. Такие фосфатиды, получившие название фосфатидных кислот, найдены в зародышах пшеницы, в листьях капусты и других растений, а также в млечном соке тропического каучуконосного дерева *Hevea brasiliensis.* Возможно, что фосфатидные кислоты образуются в результате гидролитического расщепления лецитина и кефалина под действием соответствующих ферментов. Фосфатидные кислоты содержатся в растениях в виде кальциевых, магниевых и калиевых солей.

Фосфатидные кислоты могут присоединять к себе еще один остаток глицерина, образуя фосфатидил-глицерин:

$$\begin{array}{ccccc} H_2CO & — & P & — & OCH_2 \\ | & & /\!/ \quad \backslash & & | \\ HCOH & & O \quad OH & & HC \cdot O \cdot CO \cdot R \\ | & & & & | \\ H_2C \cdot OH & & & & H_2C \cdot O \cdot CO \cdot R_1 \end{array}$$

Фосфатидил-глицерин в особенно заметных количествах содержит-

ся в хлоропластах, составляя до 50% от общего содержания липидов в листьях.

Многие растительные фосфатиды содержат сахара: глюкозу, галактозу или пентозу. Сахар этот довольно прочно связан с фосфатидами, так как его нельзя удалить даже многократным экстрагированием водой; он отщепляется от фосфатида лишь после кипячения с пятипроцентной кислотой.

Фосфатиды, особенно лецитин, широко применяются в пищевой промышленности — при изготовлении шоколада, маргарина и в качестве веществ, предохраняющих жиры от окисления и прогоркания.

Особенно большим содержанием фосфатидов отличаются яичный желток и соевые бобы. Из соевых бобов получают большое количество фосфатидов для промышленных целей.

По данным А. Н. Белозерского и И. В. Кориева, в соевых бобах содержатся следующие количества лецитина и кефалина (табл. 7).

Таблица 7

Содержание лецитина и кефалина в соевых бобах

Часть семени	Содержание кефалина, %	Содержание лецитина, %	Общее содержание фосфатидов, %
Семядоли	0,28	1,81	2,09
Зародыши (ростки)	0,53	2,62	3,15
Семя в целом	0,27	1,68	1,95

Таким образом, анализ фосфатидов сои показал, что ростки богаче фосфатидами, чем семядоли. Вместе с тем из приведенных данных видно, что и в цельном соевом бобе и в его частях кефалин составляет лишь незначительную долю от общего количества фосфатидов. Соевый лецитин содержит олеиновую (52%), линолевую (38%), линоленовую (9%), пальмитиновую и стеариновую кислоты. В состав фосфатидов сои, кукурузы и арахиса наряду с лецитином и кефалином входит также фосфатид, содержащий циклический шестиатомный спирт — *инозит* (см. стр. 159). Исследование этого фосфатида, выделенного из соевых бобов, показало, что в нем инозит связан глюкозидной связью с сахаром (галактозой или арабинозой) и сложноэфирной связью с остатком фосфорной кислоты, которая в свою очередь связана с коламином. В аналогичном фосфатиде кукурузного зерна в качестве азотистого основания содержится *церебрин* — соединение, найденное в дрожжах, плесневых и шляпочных грибах. Церебрин имеет, по-видимому, следующую структуру:

$$\begin{array}{l}CH_3(CH_2)_{13}-\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH_2}}\end{array}$$

В одноклеточных зеленых водорослях *Chlorella* и *Scenedesmus* найден, так сказать, «комбинированный» фосфатид, в котором остаток фосфорной кислоты связывает инозит и глицерид. Иначе говоря, в этом фосфатиде остаток фосфатидной кислоты через фосфорную кислоту связан с инозитом.

РАСТВОРИМЫЕ В ЖИРАХ ПИГМЕНТЫ (ХЛОРОФИЛЛ И КАРОТИНОИДЫ)

Вещества, принадлежащие к этой группе, представляют собой пигменты, не растворимые в воде, но растворяющиеся в органических растворителях. К группе **каротиноидов** относится целый ряд веществ, окрашенных в желтый или оранжевый цвет. Наиболее известными представителями каротиноидов являются *каротин* — пигмент, придающий специфическую окраску корням моркови, а также *ксантофилл* — желтый пигмент, содержащийся наряду с каротином в зеленых частях растений. Окраска семян желтой кукурузы зависит от содержащихся в них каротина и каротиноидов, получивших название *цеаксантина* и *криптоксантина*. Окраска плодов томата обусловлена каротиноидом *ликопином*. Каротиноиды играют большую роль в обмене веществ у растений и животных.



Цвет
Михаил Семенович
(1872—1919)

Хлорофилл — это пигмент, придающий зеленую окраску растениям. Он имеет большое значение в процессе ассимиляции углекислого газа зеленым растением на свету, в процессе фотосинтеза.

В настоящее время каротиноиды и хлорофилл изучены очень хорошо, несмотря на то, что они представляют собой вещества, весьма сложные по своему строению. Замечательные успехи, достигнутые за последние годы биохимиками в области выделения, очистки, установления структуры и изучения биохимических реакций каротиноидов и хлорофилла, были сделаны благодаря гениальному по своей простоте и изяществу методу хроматографического адсорбционного анализа, разработанному в 1903 г. русским ученым М. С. Цветом.

Принцип хроматографического метода заключается в том, что сложная смесь различных окрашенных веществ, растворенных в каком-либо органическом растворителе, например смесь различных каротиноидов и хлорофилла, полученная путем экстрагирования листьев петролейным эфиром или сероуглеродом, пропускается через вертикально поставленную стеклянную трубку, наполнен-

ную адсорбентом. В качестве адсорбента могут быть использованы углекислый кальций, тальк, крахмал и многие другие вещества. В силу того, что каждый из содержащихся в растворе пигментов обладает определенной, только ему свойственной способностью адсорбироваться на заполняющем трубку адсорбенте, происходит разделение этих пигментов, и каждый из них концентрируется в строго определенном слое адсорбента. Таким образом, в стеклянной трубке с адсорбентом, называемой адсорбционной колонкой, получается несколько полос, окрашенных в разные цвета, в зависимости от того, какой пигмент адсорбировался в том или ином слое адсорбента. На рис. 24 показано, как разделяются пигменты зеленого листа — каротин, ксантофилл и хлорофилл, экстрагированные из листьев циклогексаном, при пропускании раствора через колонку из окиси магния. Слой адсорбента, содержащий тот или иной пигмент, вынимают из трубки, и адсорбированное вещество, отделенное таким образом от других присутствующих в растворе веществ, может быть экстрагировано (элюировано) из адсорбента с помощью какого-либо другого растворителя, например спирта. Выделенные таким образом пигменты могут быть подвергнуты повторному хроматографическому анализу на других адсорбентах и с другими растворителями. Если данный пигмент представляет собой смесь двух или трех изомеров, имеющих одинаковую эмпирическую формулу, но различающихся лишь незначительными особенностями своих структурных формул, то с помощью дальнейшего хроматографического анализа можно разделить такие, весьма близкие по своим свойствам изомеры. Таким образом, были разделены, выделены в чистом виде и исследованы три изомера каротина, имеющие одинаковую эмпирическую формулу $C_{40}H_{56}$. Точно так же с помощью хроматографического анализа было показано, что пигменты желтой кукурузы представляют собой смесь трех каротиноидов — ксантофилла, криптоксантина и цеаксантина. Наконец, как показал М. С. Цвет, пользуясь хроматографическим анализом, можно разделить хлорофилл на два компонента, различающиеся по своему составу и свойствам — хлорофилл *a* и хлорофилл *b*. Разделение хлорофиллов в бензольном растворе на колонке из крахмала показано на рис. 25.

Хроматографический адсорбционный анализ, разработанный Цветом на смесях окрашенных веществ, в настоящее время нашел широчайшее применение при разделении, выделении и исследовании самых разнообразных веществ, не обладающих окраской. Благодаря этому методу удается разделение, очистка и получение в чистом виде витаминов, аминокислот, пептидов, ферментов, различных неорганических веществ и т. д. За последние годы при разделении и идентификации очень малых количеств веществ исключительно большую помощь оказывает биохимикам одна из разновидностей хроматографического анализа — так называемая распределительная хроматография на бумаге, разработанная английскими биохи-

миками А. Мартином и Р. Сингом. Она основана на том, что различные вещества по-разному диффундируют и распределяются на листе фильтровальной бумаги, пропитанном смесью определенных органических растворителей[1].

Особенно чувствительными разновидностями хроматографии являются так называемая тонкослойная и газовая хроматография, которые находят все более широкое применение в биохимии, химии природных соединений и пищевой химии[2].

Важиейшая роль, которую сыграл в биохимии и, в частиости, в изучеиии и установлеиии строеиия каротииоидов хроматографический аиализ Цвета, может быть охарактеризоваиа следующими словами выдающегося швейцарского химика-оргаиика и биохимика П. Каррера: «Никакое другое открытие ие оказало такого огромиого влияиия и так ие расширило возможиости исследоваиия химика-оргаиика, как хроматографический аиализ Цвета. Исследоваиия в области витамииов и гормоиов, каротииоидов и миогочислеииых других природиых соедииеиий иикогда ие могли бы развиться так быстро и дать такие большие результаты, если бы оии ие были осиоваиы иа иэвом методе, который, вместе с тем, позволил устаиовить факт иаличия в природе огромиого разиообразия родствеииых соедииеиий».

Группа каротиноидов включает в себя около 65—70 природных пигментов. Каротиноиды содержатся в большинстве растений (за исключением некоторых грибов) и, вероятно, во всех животных организмах, но их концентрация почти всегда очень низка. Содержание каротиноидов в зеленых листьях составляет примерно 0,07—0,2% при расчете на сухой вес листьев. В отдельных исключительных случаях наблюдается, однако, очень высокая концентрация каротиноидов. Так, например, в пыльниках многих видов лилий содержатся очень большие количества ксантофилла и каротиноида, называемого антераксантином.

Одной из характерных особенностей каротиноидов является наличие в них значительного числа сопряженных двойных связей, образующих их хромофорные группы, от которых зависит окраска. Все натуральные каротиноиды могут рассматриваться как производные ликопина — каротиноида, содержащегося в плодах томатов, а также в некоторых ягодах и фруктах. Эмпирическая формула ликопина $C_{40}H_{56}$. Строение его таково:

```
 CH3  CH3                                                                          CH3  CH3
   \  /        CH3          CH3              CH3           CH3                       \  /
   1 C          |            |                |             |                        1'C
    //    6  7    8 |9 10 11   12 |13 14 15  15' 14' 13'|12'  11' 10'  9'|8'  7' 6'     \\2'
 2 CH     CHCH =CHC=CHCH=CHC=CHCH=CHCH=CCH=CHCH=CCH=CHCH        CH
    |     ||                                                      ||           |3'
 3 CH2   C5·CH3                                              H3C·C5'        CH2
     \   /                                                         \       /
    4 CH2                       ликопин                            4'CH2
```

---

[1] См. ки. Р. Блок, Р. Лестранж, Г. Цвейг. Хроматография иа бумаге. М., ИЛ, 1954.

[2] E. Bayer. Gas Chromatography. Elsevier Publ. C°, Amsterdam, 1961; Thin-Layer Chromatography. A Laboratory Handbook. Edited by E. Stahl. Academic Press, London — New York, 1963.

Путем образования кольца на одном или на обоих концах молекулы ликопина образуются его изомеры α-, β- или же γ-каротины, имеющие следующее строение:

α-каротин

β-каротин

γ-каротин

Из сопоставления формул видно, что α-каротин отличается от β-изомера положением двойной связи в одном из циклов, расположенных по концам молекулы. В отличие от α- и β-изомеров, γ-каротин имеет только лишь один цикл. Наиболее богаты каротинами зеленые части растений и корень моркови. Каротины являются веществами, из которых образуется витамин A. Поскольку ликопин и каротины содержат 40 углеродных атомов, они могут рассматриваться как образованные восемью остатками изопрена. Все без исключения другие природные каротиноиды являются производными четырех указанных выше углеводородов — ликопина и каротинов. Они образуются из этих углеводородов путем введения гидроксильных, карбонильных или метоксильных групп, или же путем частичной гидрогенизации или окисления.

Так, например, в результате введения в молекулу β-каротина двух оксигрупп образуется каротиноид, содержащийся в зерне кукурузы и называемый *цеаксантином* $C_{40}H_{56}O_2$ (3,3′-диокси-β-каротин):

цеаксантин



Рис. 24 (слева). Хроматограмма пигментов листа на окиси магния:
1 — каротин, *2* — ксантофилл, *3* — хлорофилл.

Рис. 25 (справа). Поаторная хроматограмма хлорофиллов на крахмале:
1 — хлорофилл *a*, *2* — хлорофилл *в*.

Вве
кса
акс
ний
сло
цнт

СН
СН
СН
H_2

род
ури

кро
глю

рас
дру

НС

юще

Важ
погл
четк
макс
зей
сопр

шнх

Введение двух оксигрупп в молекулу α-каротина приводит к образованию *ксантофилла* $C_{40}H_{56}O_2$ (3,3′-диокси-α-каротин), являющегося изомером цеаксантина и содержащегося наряду с каротинами в зеленых частях растений. В результате присоединения к молекуле β-каротина одного атома кислорода с образованием фуранондной структуры получается каротиноид цитроксантин $C_{40}H_{56}O$, содержащийся в кожуре цитрусовых плодов:

$$CH \cdot \overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CH \cdot CH{=}CH \cdot \overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CH \cdot CH{=}CH \cdot CH{=}\overset{CH_3}{\overset{|}{C}} \cdot CH{=}CH \cdot CH{=}\overset{CH_3}{\overset{|}{C}} \cdot CH{=}CH \cdot$$

цитроксантин

Продуктами окисления каротиноидов, содержащих в молекуле 40 углеродных атомов, является *кроцетин* $C_{20}H_{24}O_4$, *биксин* $C_{25}H_{30}O_4$ и *β-цитраурин* $C_{30}H_{40}O_2$.

Кроцетин является красящим веществом, содержащимся в рыльцах крокуса в соединении с двумя молекулами дисахарида гентнобиозы в виде глюкозида кроцина. Кроцетин представляет собой дикарбоновую кислоту:

$$HOOC\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CHCH{=}CH\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CHCH{=}CHCH{=}\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}CH{=}CHCH{=}\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}COOH$$

кроцетин

Биксин — пигмент красного цвета, содержащийся в плодах тропического растения *Bixa orellana*; применяется для подкраски масла, маргарина и других пищевых продуктов:

$$HOOCCH{=}CH\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CHCH{=}CH\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CHCH{=}CHCH{=}\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}CH{=}CHCH{=}\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}CH{=}CHCOOCH_3$$

биксин

β-цитраурин содержится в кожуре плодов цитрусовых и имеет следующее строение:

$$C{\cdot}CH{=}CH\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CHCH{=}CH\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{=}CHCH{=}CHCH{=}\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}CH{=}CHCH{=}\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}{\cdot}CHO$$

β-цитраурин

Важным средством для идентификации каротиноидов являются спектры поглощения их растворов. Почти все каротиноидные пигменты имеют три четких максимума поглощения в видимой части спектра. Положение этих максимумов определяется главным образом количеством двойных связей в соответствующем пигменте. Каждая новая двойная связь в системе сопряженных двойных связей смещает максимум поглощения в сторону больших длин волн примерно на одну и ту же величину, а именно на 200—220Å.

Таким образом, главными хромофорными группами каротиноидов являются двойные связи. Другие хромофорные группы, подобные карбонильной и карбоксильной, вызывают усиление окраски, особенно если они сочетаются с системой сопряженных двойных связей. Каротиноиды образуются главным образом в растениях, и, по-видимому, животный организм может вызывать лишь весьма незначительные изменения в молекулах этих пигментов.

В организме животных и человека каротиноиды играют важную роль в качестве исходных веществ, из которых образуются витамины группы А, а также так называемый зрительный пурпур, участвующий в зрительном акте. Что касается физиологической роли каротиноидов в растительном организме, то она до сего времени не ясна. Предполагают, что каротиноиды играют важную роль в процессах фотосинтеза, дыхания, роста растений. Однако экспериментальные данные по этому вопросу недостаточны и противоречивы. За последние годы внимание исследователей направлено на выяснение возможной роли каротиноидов в процессе размножения растений. При этом установлено, что каротиноиды содержатся в значительных количествах в рыльцах и пыльце многих растений и что каротин стимулирует рост пыльцевых трубочек. Особенно интересными являются исследования Р. Куна, показавшие важную роль некоторых каротиноидов в процессе размножения одноклеточной жгутиковой водоросли *Chlamydomonas eugametos*.

Исходя из химического строения каротиноидов, содержащих значительное количество двойных связей, можно предполагать, что они являются в растении переносчиками активного кислорода и принимают участие в окислительно-восстановительных процессах. На это указывает факт широкого распространения в растениях кислородных производных каротиноидов, называемых э п о к с и д а м и, чрезвычайно легко отдающих свой кислород. Примером такого кислородного производного может служить диэпоксид β-каротина:

```
  H3C    CH3                                   H3C    CH3
     \  /                                         \  /
      C                                            C
     /  \                                         /  \
  H2C    C · CH=CH ..... CH=CH · C    CH2
   |     | \                                  / |     |
   |     |  O                                O  |     |
   |     | /                                  \ |     |
  H2C    C                                      C    CH2
     \  / \                                    / \  /
     CH2   CH3                             H3C   CH2
```

Вместе с тем, как показала О. П. Бородина, каротин легко образует перекиси, в которых молекула кислорода присоединяется по месту двойной связи и может затем легко окислять различные вещества.

Все эти факты свидетельствуют о существенной роли каротиноидов в обмене веществ у растений. Однако проделанные в этом на-

правлении исследования являются лишь первыми шагами в изучении физиологической роли каротиноидов, выяснение которой представляет важную и интересную задачу дальнейших исследований.

В свое время Р. Вильштеттером было высказано предположение о том, что каротиноиды образуются из фитола (см. стр. 349) и что таким образом хлорофилл является источником образования каротиноидов. Однако против этой гипотезы говорит тот факт, что интенсивный биосинтез каротиноидов имеет место в органах высших растений и у микроорганизмов, лишенных хлорофилла. И фитол, и каротиноиды образуются из общих предшественников, основной структурной единицей которых является изопрен:

$$\begin{matrix} CH_3 \diagdown \\ C{-}CH{=}CH_2. \\ CH_2 \diagup\!\!\!\diagup \end{matrix}$$

Действительно, хотя изопрен и не найден в свободном виде в растениях, однако и фитол, и каротиноиды так же, как и терпены и каучук, представляют собою полиизопреновые соединения. В настоящее время показано, что исходным материалом для синтеза полиизопреновых соединений является уксусная кислота, вернее радикал ацетила CH_3CO. Новейшие данные свидетельствуют о том, что промежуточным продуктом, образующимся при биосинтезе каротиноидов из соединений, содержащих активный ацетил, является мевалоновая кислота:

$$\begin{array}{c} \quad\; CH_3 \\ \quad\; | \\ HOOC{-}CH_2{-}C{-}CH_2{-}CH_2OH \\ \quad\; | \\ \quad\; OH \end{array}$$

Так, например, опыты со срезами корня моркови и полученными из его ферментными препаратами показали, что уксусная и мевалоновая кислоты, меченные радиоактивным углеродом C^{14}, интенсивно включаются в β-каротин. Точно так же меченная C^{14} мевалоновая кислота является исходным веществом для синтеза β-каротина в растущих культурах грибов *Phycomyces blakesleeanus* и *Mucor hiemalis*, а также для синтеза ликопина в гомогенатах плодов томата и в бесклеточной ферментной системе, полученной из гриба *Phycomyces blakesleeanus*.

Синтез самой мевалоновой кислоты и дальнейшее образование полиизопреновых соединений происходит при участии кофермента А .

Строение и свойства хлорофилла рассмотрены нами в главе, посвященной фотосинтезу и хемосинтезу.

СТЕРИДЫ

Стериды представляют собой сложные эфиры жирных кислот и высокомолекулярных циклических спиртов — стеролов, являющихся производными циклопентанопергидрофенантрена.

В основе строения циклопентанопергидрофенантрена лежит следующая циклическая структура:

Стериды и стеролы не растворяются в воде, но прекрасно растворяются во всех жировых растворителях. Поэтому при экстрагировании какого-либо продукта растительного происхождения серным эфиром или другим жировым растворителем в экстракт, кроме жиров и фосфатидов, переходят также стериды и стеролы. Если произвести омыление жира, то стеролы остаются в так называемой неомыляемой фракции, откуда могут быть выделены в чистом виде путем фракционированной кристаллизации из спиртовых растворов.

Стеролы играют важную роль в составе протоплазмы, образуя с белками сложные комплексы. Стеролы тесно связаны по своей химической структуре и по биохимическим превращениям с целым рядом веществ, оказывающих сильное физиологическое действие на организм человека и являющихся, так же как и стеролы, производными циклопентанопергидрофенантрена. К числу этих веществ принадлежат прежде всего витамины группы D, многие гормоны, сапонины, глюкозиды, получившие название сердечных ядов, а также вещества, вызывающие появление злокачественных опухолей — рака и саркомы.

Характерным представителем группы стеролов является *эргостерол* $C_{28}H_{43}OH$. Он содержится в дрожжах, в рожках спорыньи, плесневых грибах, в пшеничном зерне. Молекула эргостерола имеет следующее строение:

эргостерол

Как показал А. Виндаус, из эргостерола, при облучении его ультрафиолетовыми лучами, образуются витамины группы D.

Из различных продуктов растительного происхождения выделен целый ряд стеролов. Так, например, из масла кукурузы и из масла пшеничных зародышей выделен стерол, имеющий эмпирическую формулу $C_{27}H_{45}OH$. В масле, получаемом из эндосперма пшеницы, содержатся два стерола — один с той же эмпирической формулой $C_{27}H_{45}OH$ и другой, являющийся

его гидрированным производным, — дигидростерин, соответствующий эмпирической формуле $C_{27}H_{47}OH$. Из пшеничных и рисовых зародышей выделены также стеролы, имеющие эмпирическую формулу $C_{30}H_{49}OH$. Отдельные стеролы отличаются друг от друга количеством содержащихся в них двойных связей и строением боковой цепи. Так, например, ситостеролы $C_{29}H_{49}OH$ — группа весьма распространенных в растениях стеролов — в отличие от эргостерола, содержат всего лишь одну двойную связь, а в боковой цепи у них одна метильная группа замещена этильной:

β-ситостерол

Стигмастерол $C_{29}H_{47}OH$, содержащийся в соевом масле, и спинастеролы, выделенные из листьев шпината и капусты, отличаются от ситостерола наличием в них двух двойных связей.

Особенно велико содержание стеридов и стеролов в дрожжах, которые используются для промышленного выделения эргостерола и последующего получения из него витаминов группы D. Дрожжи содержат свыше 2% стеридов и стеролов на сухое вещество. В пшеничном зерне их содержится от 0,03 до 0,07%; в зерне кукурузы, отличающемся высоким содержанием жира, —от 1,0 до 1,3%.

Значительные количества стеролов, в частности эргостерола, содержатся в мицелии плесневых грибов, который является отходом антибиотической промышленности и производства лимонной кислоты. Интересно, что в бактериях стеролы не найдены.

Как мы уже отмечали выше, исходным веществом при биосинтезе стеролов, так же как и при биосинтезе каротиноидов, терпенов и каучука, является уксусная кислота. Активируясь под действием кофермента А и превращаясь в активный ацетил CH_3CO—,она образует мевалоновую кислоту (см. стр. 139) и далее изопентенилпирофосфат, представляющий собою как бы «активный изопрен».

изопентенилпирофосфат

Таким образом, мевалоновая кислота и изопентенилпирофосфат представляют собою важнейшие промежуточные продукты, образую-

щиеся при биосинтезе всех полиизопреновых соединений (каротиноидов, терпенов, каучука и гуттаперчи) и стеролов.

Однако дальнейшие превращения изопентенилпирофосфата в полиизопреноиды и в стеролы протекают по-разному. Синтез стеролов идет через образование алифатического углеводорода сквалена $C_{30}H_{48}$:

CH_3 CH_3 CH_3
C CH_2 C CH_2 C CH_2 CH CH_2 CH CH_2 CH CH_3
CH_3 CH CH_2 CH CH_2 CH CH_2 C CH_2 C CH_2 C
CH_3 CH_3 CH_3

сквален

Как видно из формулы сквалена, он представляет собою полимер, образованный шестью остатками изопрена.

ЛИТЕРАТУРА

Биосинтез липидов, Труды V Международиого биохимического конгресса, Симпозиум VII. Изд.-во АН СССР, М., 1962.

Будницкая Е. В. Современиые представления о биоситезе и физиологической роли каротииоидов. «Изв. АН СССР», Сер. биол., № 4, стр. 79, 1952.

Голдовский А. М. Закоиомериости химического строеиия растительных веществ. П. Закоиомериости химнческого строеиия растительиых жиров. «Ж. прнкл. химни», т. 21, стр. 534, 1948.

Голдовский А. М. Теоретические основы производства растительных масел. Пищепромиздат, М., 1958.

Гудвии Э. Сравнительная бнохнмия каротииондов. ИЛ, М., 1954.

Зелннскнй Н. и Бондарь Л. Высшие жнрные кнслоты и нх отношенне к туберкулезным бациллам. Изд. Моск. о-ва испыт. природы, М., 1951.

Зиновьев А. А. Хнмня жиров. Пищепромнздат, М., 1952.

Лебедев С. И. Фнзнологическая роль каротина в растенни. Изд. АН УССР, Кнев, 1953.

Самсонов Г. В. Хроматография в бнохимин. Медгиз, Л., 1955.

Савннов Б. Г. Каротнн, Изд. АН УССР, Кнев, 1948.

Тнрфельдер Г. и Кленк Е. Химня цереброзидов и фосфатидов. Пищепромиздат, М., 1937.

Фердман Д. Л. Новые даниые о фосфатндах. «Укр. бнохнм. ж.», т. 18, № 1, стр. 123, 1946.

Цвет М. С. Хроматографнческнй адсорбционный аналнз. Изд-во АН СССР, М., 1946.

Физер Л. и Физер М. Химня прнродных соединений фенантренового ряда. Госхимиздат, М. — Л., 1953.

Adam S. Q., Brossard J. a. Mackinney G. Detection and Estimation of Squalene in Leaves «Nature», 194, 479, 1962.

Bergmann W. The Plant Sterols. «Annual Rev. Plant Physiol.», 4, 383, 1953.

Deuel H. J., The Lipids. Vol I, Chemistry, 1951; Vol. 2, Biochemistry (Digestion, Absorption, Transport and Storage), 1955; Vol. 3, Biochemistry (Biosynthesis, Oxidation, Metabolism and Nutritional Value), 1957; Interscience Publishers, New York.

Hanahan D. J., Gurd F.R.N. a. Zabin J. Lipide Chemistry, J. Wiley, New York, 1960.

H i l d i t c h T. P. The Chemical Constitution of Natural Fats. Second Edition, London, 1947.
K a r r e r P. u. J u c k e r E. Die Carotinoide. Birkhäuser. Basel, 1948
L e p a g e M., M u m m a R. a. B e n s o n A. Plant Phospholipids. II. Isolation and Structure of Glycerophosphorylinositol «J. Amer. Chem. Soc.», 82, 3713, 1960.
M a r l i a k M. P., Étude par chromatographie en phaze gazeuse des paraffines et des alcohols á longue chaine de la cire cuticulaire des pommes. «C. r Acad. sci.», 251, 2393, 1960.
W i n t e r s t e i n A. Neuere Ergebnisse der Carotinoid-Forschung. «Angew. Chemie», 72, 902, 1960.
Y o k o y a m a H., N a k a y a m a T. O. a. C h i c h e s t e r C. O., Biosynthesis of β-Carotene by Cell-Free Extracts of *Phycomyces blakesleeanus*. «J. Biol. Chem», 237, 681, 1962.

Глава IV

ВИТАМИНЫ

> «Связь между ферментами и витаминами, возможно, и ... выражается в том, что последние необходимы как строительный материал для первых».
>
> *Н. Д. Зелинский* (*1922*)

Витамины представляют собой группу сравнительно низкомолекулярных органических соединений разнообразного химического строения, объединяемых по признаку их строгой необходимости для питания животного и человеческого организма. По сравнению с основными питательными веществами — белками, жирами и углеводами витамины требуются в ничтожно малых количествах и выполняют в организме те или иные каталитические функции.

Основным поставщиком витаминов для человека и животных является растение, где они синтезируются. Человек получает витамины или непосредственно из пищевых продуктов растительного происхождения, или из пищевых продуктов животного происхождения, в которых витамины были предварительно накоплены из растительной пищи.

Отсутствие или недостаток в пище витаминов приводит к глубоким нарушениям обмена веществ и в конечном счете к заболеваниям, получившим название авитаминозов и гиповитаминозов. В зависимости от недостатка того или иного витамина возникают различные авитаминозы и часто довольно тяжелые заболевания. Таковы, например, цинга, рахит, пеллагра, куриная слепота, полиневрит. Авитаминозы как социальные болезни в СССР отсутствуют.

Витамины были открыты в 1880 г. русским ученым Николаем Ивановичем Луниным. Он установил, что бѐлые мыши, получавшие коровье молоко, хорошо росли и были здоровы. Такие же мыши, но получавшие вместо цельного молока смесь очищенных веществ, входящих в состав молока: белка, жира, сахара и минеральных солей, — быстро погибали.

Лунин отсюда сделал вывод, что в пище, кроме известных уже химических веществ, содержатся какие-то неизвестные, но жизненно необходимые вещества.



Лунин
Николай Иванович
(1854—1937)

Несколько лет спустя важные наблюдения были сделаны голландским врачом Х. Эйкманом, который показал, что однообразное питание полированным рисом вызывает у людей тяжелое заболевание, известное под названием бéри-бéри. Проведенные Эйкманом опыты показали, что аналогичное заболевание (полиневрит) возникало у голубей, которых он кормил полированным рисом. Добавка к полированному рису рисовых отрубей оказывала благотворное действие и излечивала как подопытных голубей, так и людей, больных бéри-бéри. Исходя из этого, Эйкман высказал предположение, что рисовые отруби содержат какие-то неизвестные вещества, необходимые для нормального питания и обмена веществ. Позже эти наблюдения Лунина и Эйкмана были подтверждены Ф. Г. Гопкинсом.

По предложению польского ученого К. Функа, те жизненно важные вещества, которые содержатся в пище в весьма незначительных количествах, но играют, как показали Лунин, Эйкман и Гопкинс, столь важную роль в обмене веществ, были названы витаминами. В настоящее время открыто большое число различных витаминов и выяснена их химическая природа. Раздел биохимии, занимающийся изучением витаминов и их роли в организме человека, животных и растительных организмах, называется витаминологией. Важная роль витаминов в питании человека и сельскохозяйственных животных вызвала к жизни специальную отрасль пищевой промышленности — витаминную промышленность.

В настоящее время установлено, что витамины необходимы для нормальной жизнедеятельности не только животных и человека, но также высших растений и микроорганизмов. Так, например, корни растений не могут нормально развиваться без некоторых витаминов. Точно так же микроорганизмы для своего нормального развития и роста требуют наличия в питательной среде многих витаминов. Благодаря этому последнему обстоятельству в настоящее

время некоторые микроорганизмы широко применяются для обнаружения и количественного определения витаминов.

В результате длительных исследований установлено, что имеется тесная связь между витаминами и теми могучими катализаторами химических превращений в организме, которые мы называем ферментами. Оказалось, что многие витамины, соединяясь с белком, образуют ферменты. Таким образом, заболевание, вызываемое недостатком в пище того или иного витамина, является следствием того, что в организме недостаточно активен соответствующий фермент, катализирующий определенное звено биохимических превращений, составляющих обмен веществ.

Рассмотрим строение и свойства отдельных, наиболее важных витаминов. Витамины могут быть разделены по признаку растворимости на две большие группы — витамины, растворяющиеся в жирах, и витамины, растворимые в воде.

ВИТАМИНЫ, РАСТВОРИМЫЕ В ЖИРАХ

Группа витаминов А. Витамины группы А являются производными каротина. Так же, как и каротин, они нерастворимы в воде, но растворяются в различных жировых растворителях и жирах. Отсутствие в пище витаминов группы А сказывается в нарушении роста, понижении стойкости к заболеваниям и ослаблении зрения, называемом куриной слепотой. Витамины группы А образуются и встречаются исключительно в тканях животных и продуктах животного происхождения, в растениях они отсутствуют. Однако образуются эти витамины из каротиноидов, столь широко распространенных в растениях. Тесная связь между каротином и витаминами группы А была выяснена как в результате опытов на животных, так и в результате установления их химической структуры. Было замечено, что белые крысы, питающиеся белой или желтой (содержащей каротиноиды) кукурузой, растут по-разному. Животные, питающиеся желтой кукурузой, растут гораздо быстрее и меньше подвержены заболеваниям. Далее было показано, что животные, получающие каротин, накапливают в печени маслянистое вещество, отличающееся от каротина своей слабо-желтой окраской, но обладающее высокой физиологической активностью. Наконец, было установлено, что витамин А образуется в животном организме из каротина под действием особых ферментов. Все изложенные факты привели к заключению о том, что каротин представляет собой провитамин А. Поэтому витаминная промышленность изготовляет очищенные препараты каротина для обогащения ими различных пищевых продуктов.

Наиболее богатым источником витаминов группы А является рыбий жир и особенно жиры, содержащиеся в печени некоторых рыб и морских животных: акулы, трески, палтуса, кита, моржа, тюленя, белухи.

Витамин A_1, как это видно из приведенной ниже формулы, представляет собой половину молекулы β-каротина, содержащую спиртовую группу:

$$
\begin{array}{llllllllll}
CH_3 & CH_3 & & & & & & & & \\
\quad\diagdown & \diagup & & & & & & & & \\
 & C & & CH_3 & & & & CH_3 & & \\
\quad\diagup & \diagdown & & | & & & & | & & \\
H_2C & C-CH=CH- & & C=CH-CH=CH- & & & & C=CH-CH_2-OH & & \\
| & \| & & & & & & & & \\
H_2C & C-CH_3 & & & & & & & & \\
\quad\diagdown & \diagup & & & & & & & & \\
 & CH_2 & & & & & & & &
\end{array}
$$

Таким образом, из одной молекулы β-каротина могут образоваться две молекулы витамина A_1. Что же касается α- и γ-каротинов, то из приведенных нами ранее формул (стр. 136) видно, что они могут образовать лишь по одной молекуле витамина A_1. Именно поэтому β-каротин вдвое активнее, как провитамин A, чем α и γ-каротины.

Витамин A_2 был открыт в печени пресноводных рыб сотрудниками Всесоюзного витаминного института В. Розановой и Э. Ледерером. Этот витамин отличается от витамина A_1 своей эмпирической и структурной формулами. Эмпирическая формула витамина $A_1 - C_{20}H_{30}O$, а витамина $A_2 - C_{20}H_{28}O$.

Ниже приведена структурная формула витамина A_2:

$$
\begin{array}{llllllll}
H_3C & CH_3 & & & & & & \\
\quad\diagdown & \diagup & & & & & & \\
 & C & & CH_3 & & & CH_3 & \\
\quad\diagup & \diagdown & & | & & & | & \\
H_2C & C-CH=CH- & & C=CH-CH=CH- & & & C=CH-CH_2OH & \\
| & \| & & & & & & \\
HC & C-CH_3 & & & & & & \\
\quad\diagdown\!\!\diagdown & \diagup & & & & & & \\
 & CH & & & & & &
\end{array}
$$

витамин A_2

Из сопоставления структурных формул видно, что витамин A_2 содержит 6 двойных связей, в то время как витамин A_1 — 5. В печени кита найдено вещество, названное китолом, представляющее собой продукт конденсации витамина A не установленного еще строения. Китол не расщепляется в организме и потому не обладает действием витамина A, но при нагревании до 200°С китол образует этот витамин.

Содержание витамина A в пищевых продуктах выражается в так называемых интернациональных единицах. Одна такая еди-

ница витамина А представляет собой 0,6 гаммы чистого β-каротина (провитамина А), растворенного в кокосовом масле[1].

1 г чистого каротина содержит 1 670 000 интернациональных единиц, а 1 г чистого витамина A_1 — 3 300 000 интернациональных единиц.

Содержание витамина А (каротина) в некоторых продуктах таково:

Продукт	*Витамин А (каротин) в гаммах на 1 г*
Растительные масла	0
Картофель	0
Пшеница, пшеничная мука, хлеб	0 — 0,2
Мясо и птица	0,04
Рыба	следы
Молоко летнее	1
Масло сливочное	12
Абрикосы	20
Томаты	20
Салат и шпинат	25 — 50
Морковь красная	90
Листья люцерны	100
Жир из печени трески	750
» » » акулы	50
» » » морского окуня	900
» » » кашалота	60000

Наиболее важными источниками витамина А в пище человека являются листовая зелень (салат, шпинат, зеленый лук и др.), морковь, томаты, а также сливочное масло и яичный желток. Необходимо отметить, что зимние молоко, сливочное масло и яйца во много раз беднее витамином А, чем те же продукты летнего происхождения. Это объясняется высоким содержанием каротина в зеленых кормах. Витамин А в чистом виде легко разрушается при окислении и при восстановлении (особенно при нагревании).

Группа витаминов D. Недостаточное содержание в пище этих витаминов приводит к возникновению рахита. Они нерастворимы в воде, но растворяются в жирах. Витамины группы D встречаются только в животном организме. В растениях содержатся стеролы, из которых под влиянием облучения ультрафиолетовыми лучами образуются витамины группы D. Наиболее важным из этих стеролов является *эргостерол*, содержащийся в большом количестве в дрожжах и плесневых грибах, используемых в качестве исходного продукта при промышленном получении витамина D. Из эргостерола при облучении его ультрафиолетовыми лучами образуется *витамин* D_2; из гидрированного эргостерола (дигидроэргостерола) при этом образуется *витамин* D_4, а из 7-дегидрохо-

[1] Одна гамма (γ или *μг*) равняется 0,001 *мг*.

лестерола — *витамин* D_3. Поскольку витамины группы D образуются из стеролов под влиянием облучения ультрафиолетовыми лучами, эти стеролы называют провитаминами D. Ниже мы приводим структурную формулу витамина D_2.

Витамин D_2

Из сопоставления структурных формул витамина D_2 и эргостерола (стр. 140) видно, что при облучении последнего ультрафиолетовыми лучами происходит разрыв одного из содержащихся в его молекуле ароматических колец (место разрыва обозначено стрелкой).

Наиболее богатыми источниками витаминов группы D являются рыбий жир, печень млекопитающих и птиц. Витамины D содержатся также в молоке, сливочном масле и в яичных желтках. Летнее молоко и полученное из него сливочное масло значительно богаче витаминами D, чем зимнее. Это объясняется более интенсивным образованием витаминов D из стеролов под воздействием ультрафиолетовых лучей солнечного света в летнее время.

В пищевой промышленности в настоящее время широко применяется обогащение витаминами D различных продуктов — маргарина, рыбьего жира и др.

Содержание витаминов группы D в некоторых пищевых продуктах показано ниже:

Продукт	*Витамины* D *в гаммах на 100 г продукта*
Жир из печени трески	250
Печень животных	0,2 — 1,2
Масло сливочное летом	2 — 8
» » » зимой	1 — 2
Молоко	0,01 — 0,25
Яичный желток зимой	3,5
» » летом	12,5
Зеленые части растений	0
Масло растительное	0
» » » после облучения ультрафиолетовыми лучами	25 — 50
Сухие пивные дрожжи после облучения ультрафиолетовыми лучами	2500 — 12500

В и т а м и н Е (токоферол). Недостаток витамина Е в кормах приводит к нарушениям половой функции животных: у самцов происходит нарушение образования спермиев и перерождение семенных желез, а у самок наблюдаются бесплодие или преждевременные роды, а также нервномышечные расстройства у приплода. В настоящее время установлено, что витамин Е является смесью четырех высокомолекулярных циклических спиртов, получивших название α- β-, γ- и δ-токоферолов. Ниже приведена структурная формула физиологически наиболее активного компонента витамина Е — α-токоферола. Наиболее богаты витамином Е зародыши злаков и зеленые листья растений.

```
          CH3
          |
          C    CH2
        //  \ /   \
   HO—C      C     CH2                CH3            CH3           CH3
      |      ||     |                  |              |             |
  CH3—C      C      C—(CH2)3CH(CH2)3 · CH(CH2)3 · CH · CH3
        \\  / \   / |
          C     O   |
          |         CH3
          CH3
```

α-токоферол

Витамин Е имеет большое значение для животноводства. Применение этого витамина в виде масла из пшеничных зародышей дает возможность резко снизить эпидемический аборт у коров. Токоферолы играют также весьма существенную роль в качестве веществ, предохраняющих растительные масла от окисления и прогоркания (как антиокислители).

В различных продуктах растительного происхождения содержатся следующие количества витамина Е:

Продукт	*Витамин* Е *в гаммах на 1 г продукта*
Зерио пшеницы	9,0
Мука пшеничная высшего сорта	0,3
» » 1-го сорта	15,0
Отруби мелкие	32,0
» крупные	3,0
Пшеничные зародыши	158,0
Масло из пшеничных зародышей	2620 —2740
» хлопковое	830 — 1100
» подсолиечное	510,0

Витамины группы К. Под этим названием объединяется группа так называемых антигеморрагических факторов, необходимых для нормального свертывания крови. Витамины группы К широко распространены в продуктах растительного и животного происхождения.

Они растворимы в большинстве органических растворителей, но нерастворимы в воде.

Лучшими источниками витаминов К являются зеленые части растений.

По своей химической природе витамины группы К представляют собой производные нафтохинона. *Витамин* K_1, содержащийся в зеленых листьях люцерны, шпината, капусты, крапивы и других растений, имеет следующую структуру:

$$-C-CH_2-CH{=}C(CH_3)-CH_2-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-CH_3$$

Витамин K_1

Длинная боковая цепь витамина K_1 является остатком высокомолекулярного алифатического спирта фитола, входящего в состав хлорофилла.

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

Витамин B_1 (аневрин, тиамин). Ранние симптомы недостатка витамина B_1 заключаются в нарушениях нервной системы — недостаточной концентрации внимания, быстрой умственной и физической утомляемости, легкой возбудимости, плохом аппетите. Вместе с этим наблюдается падение веса. При этом повышается содержание пировиноградной кислоты в крови и моче. При дальнейшем развитии болезни наблюдаются болевые ощущения в ногах, заболевание периферической нервной системы (полиневрит), параличи, одышка. В странах юго-восточной Азии полиневрит называют бéри-бéри. Заболевание распространено в Японии, Индонезии и Индокитае среди беднейших слоев населения, питающихся главным образом полированным рисом, в котором содержание витамина B_1 ничтожно.

Богатым источником витамина B_1 являются пшеничные и рисовые отруби, зародыши злаков, внутренние органы животных (печень, почки и сердце). Особенно богаты витамином B_1 дрожжи. Витамин B_1 в чистом кристаллическом виде имеет форму мелких бесцветных кристалликов, обладающих горьким вкусом, легко

растворяющихся в воде. В кислой среде витамин B_1 стоек к нагреванию и кипячению, но очень легко разрушается при нагревании в нейтральной и особенно в щелочной среде. Вследствие этого витамин B_1 мало разрушается при обработке пищевых продуктов теплом, например при варке пищи или выпечке хлеба; чрезвычайно быстро он разрушается при выпечке кондитерских мучных изделий, изготовляемых на щелочных разрыхлителях (сода или углекислый аммоний). Структурная формула витамина B_1 (в виде бромистоводородного соединения) имеет следующий вид:

```
                          CH3
                           |
   N=C·NH2·HBr C=====C—CH2—CH2OH
   |   |              /     |
CH3—C  C—CH2—N             |
   ||  ||              |\    |
   N—CH            Br  CH—S
```

витамин B_1 (бромистоводородное соединение)

Разработаны методы синтетического получения витамина B_1.

Витамин B_1 играет важную роль в процессах превращения углеводов в организме животных, растений и микроорганизмов. Эта его роль связана с тем обстоятельством, что он входит в состав фермента пируватдекарбоксилазы, расщепляющего образующуюся при диссимиляции углеводов пировиноградную кислоту $CH_3 \cdot CO \cdot COOH$. Вследствие этого недостаток витамина B_1 в пище человека приводит к накоплению пировиноградной кислоты в крови и тканях.

Витамин B_1 входит в состав пируватдекарбоксилазы в виде своего фосфорнокислого эфира, имеющего следующую структуру:

```
                                                           OH
                                                           |
  N=C · NH2            H3C · C===C · CH2 · CH2O—P=O
  |   |                       /     |                      |
H3C · C  C————C————N           |                      O
  ||  ||      / \        | \C—S                    |
  N—CH      H   H      Cl  H                    HO—P=O
                                                           |
                                                           OH
```

Этот фосфорнокислый эфир витамина B_1, соединяясь с белком, образует пируватдекарбоксилазу, расщепляющую пировиноградную кислоту на уксусный альдегид и CO_2.

Содержание витамина B_1 в пищевых продуктах обычно выражают в гаммах на 1 *г* продукта. Ниже приводится содержание витамина B_1 в пищевых продуктах:

Продукт	*Витамин* B_1 *в гаммах на 1 г продукта*
Пшеничные зародыши	15,6 — 62
Пшеница	3,7 — 6,1
Мука пшеничная обойная	5,0 — 4,0
» » » 1-го сорта	1,0
» ржаная обойная	7,0 — 4,0
Отруби пшеиичные	7,0 — 28,0
» рисовые	18,5 — 25,0
Печень и почки	5,0 — 6,3
Говядина и баранииа	1,7 — 2,0
Рыба	1,0 — 2,0
Свежие фрукты и овощи	1,0 — 2,0
Картофель	0,9
Дрожжи хлебопекариые сухие	27,0 — 66,0
» пивные	200,0

Таким образом, практически наиболее важным источником витамина B_1 в нашей пище являются зерновые продукты, содержащие частицы отрубей и зародыша.

Витамин B_2 (рибофлавин). Недостаток рибофлавина в пище вызывает нарушение аппетита, падение веса, слабость, резь в глазах, болезненные ощущения в слизистых оболочках рта.

Рибофлавин, так же как и тиамин, растворяется в воде. Строение рибофлавина таково:

```
              H        CH2—(CHOH)3—CH2OH
              |        |
            /C\\     /N\   //N\
H3C—C          C       C        CO
     ||        |       |        |
H3C—C          C       C        NH
            \C//   \N//  \C/
              |            ||
              H            O
```

В рибофлавине азотистое основание (6,7-диметилизоаллоксазин) связано с остатком многоатомного спирта D-рибита, образующегося при восстановлении D-рибозы.

Рибофлавин в соединении с фосфорной кислотой входиг в состав некоторых ферментов, играющих важную роль в обмене ве-

ществ. Соединение рибофлавина с фосфорной кислотой называется флавинмононуклеотидом. Его строение представлено ниже:

```
       CO   N   CH
      /  \ // \ / \\
    HN    C    C    C—CH3
    |     |    ||   |
    OC    C    C    C—CH3
      \\ / \  / \\ /
       N    N    CH
            |
           CH2
            |
          H—C—OH
            |
         OH—C—H
            |
         OH—C—H
            |
           CH2OPO(OH)2
```

Флавинмононуклеотид является активной группой окислительно-восстановительных ферментов, участвующих в переносе водорода.

Эта активная группа приобретает каталитические свойства лишь после соединения со специфическим белком. В растительных и животных организмах рибофлавин содержится как в свободном виде, так и в виде фосфорнокислого эфира.

Флавинмононуклеотид может соединяться с молекулой адениловой кислоты. При этом образуется флавинадениндинуклеотид, который в соединении с белком представляет собой окислительно-восстановительный фермент (дегидрогеназу), катализирующий окисление аминокислот.

Таким образом, нарушения обмена веществ, возникающие при недостатке рибофлавина, объясняются замедленным синтезом тех окислительно-восстановительных ферментов, в состав которых он входит.

Наиболее богаты рибофлавином дрожжи, печень, почки, сердце.

Исключительной способностью синтезировать витамин B_2 обладает грибок *Eremothecium ashbyii*. Он образует так много рибофлавина, что этот последний выделяется в мицелии в виде кристаллов. *Eremothecium ashbyii* используется для промышленного производства рибофлавина.

Содержание рибофлавина в различных пищевых продуктах представлено ниже:

Продукт	*Рибофлавин в гаммах на 1 г продукта*
Сухие пивные дрожжи	30
« пекарские дрожжи	36
Печень быка	10 — 25
Почки быка	10 — 20
Молоко	1
Яичный желток	2
Овощи	0,1 — 0,5
Пшеница	0,6 — 3,7
Пшеничные зародыши	7,8 — 14,5
Рожь	1,7 — 2,9
Картофель	0,4

Необходимо отметить, что весьма низким содержанием рибофлавина отличается пшеничная и ржаная мука высших сортов. Практически наиболее важным источником рибофлавина в нашей пище являются молоко и зеленые овощи.

Витамин B_6 (пиридоксин). Отсутствие или недостаток витамина B_6 в пище приводит к нарушениям белкового обмена и синтеза жиров в животном организме. Витамин B_6 растворим в воде. Приводим структурную формулу витамина B_6:

```
           CH2OH
             |
             C
           //  \
    HO—C        C—CH2OH
       |        ||
    CH3—C        CH
          \\   /
             N
```

Роль витамина B_6 в обмене веществ заключается в том, что его производное в виде фосфорнокислого эфира входит в состав ферментов, катализирующих превращения аминокислот, в частности их декарбоксилирование (расщепление с выделением углекислого газа), а также реакцию переаминирования (см. стр. 324).

При авитаминозе B_6 отмечают также глубокие нарушения в синтезе и обмене аминокислоты триптофана.

Наибольшим содержанием витамина B_6 отличаются дрожжи, рисовые отруби, пшеничные зародыши.

В различных пищевых продуктах содержатся следующие количества витамина B_6:

Продукт	*Витамин B_6 в гаммах на 1 г продукта*
Дрожжи сухие	25 — 50
Пшеничные зародыши	25
Пшеница	5
Рисовые отруби	50
Рис полированный	1,6
Говядина	5
Молоко	0,5
Сливочное масло	2
Рыба	10

Витамин PP (никотиновая кислота). Отсутствие или недостаток никотиновой кислоты в пище приводит к заболеванию, которое называется пеллагра. Характерными симптомами этой болезни являются поражения кожи, поносы, психические расстройства. Пеллагра встречается среди беднейших слоев населения Италии, Соединенных Штатов и Африки.

Никотиновая кислота содержится в организме, по-видимому, главным образом в виде своего амида. Она, так же как тиамин, рибофлавин и пиридоксин, принадлежит к группе водорастворимых витаминов.

Строение никотиновой кислоты и ее амида показано ниже:

```
      CH                     CH
    //  \                  //  \
  HC     C—COOH          HC     C—CONH2
  |      ||              |      ||
  HC     CH              HC     CH
    \\  /                  \\  /
      N                      N
```

никотиновая кислота — амид никотиновой кислоты

Физиологическая роль никотиновой кислоты заключается в том, что она входит в состав окислительно-восстановительных ферментов дегидрогеназ, катализирующих отнятие водорода от окисляющихся при этом органических веществ.

Отнятый таким образом водород эти ферменты передают далее окислительно-восстановительным ферментам, в состав которых входит рибофлавин.

По-видимому, некоторое количество никотиновой кислоты может синтезироваться в организме из триптофана. Поэтому недоста-

точное потребление витамина B_6, приводящее к нарушениям в синтезе и обмене триптофана, нарушает также нормальное течение синтеза никотиновой кислоты. Поэтому пеллагра легче возникает при недостатке в пище триптофана, например при преобладании в пище кукурузной муки, белки которой бедны триптофаном.

Наиболее богаты никотиновой кислотой дрожжи, отруби, пшеничные зародыши и внутренние органы животных (печень, почки).

Приводим содержание никотиновой кислоты в некоторых пищевых продуктах:

Продукт	*Никотиновая кислота (и ее амид) в гаммах на 1 г продукта*
Мясо	0,2
Дрожжи	110
Пшеница	45 — 63
Мука высшего сорта	10
Отруби	120 — 325
Пшеничные зародыши	35 — 75
Кукуруза	15
Картофель	10

Пантотеновая кислота. Строение пантотеновой кислоты показано ниже:

$$\begin{array}{c} \quad CH_3OH \\ \quad | \quad\; | \\ HO-CH_2-C-CH-CO-\underline{NH-CH_2-CH_2-COOH} \\ | \\ CH_3 \end{array}$$

пантотеновая кислота

Как видно из приводимой формулы, в состав пантотеновой кислоты входит в качестве составной ее части остаток β-аланина (отмечен пунктиром).

Недостаток пантотеновой кислоты в диете животных приводит к задержке роста, поражениям кожи, нарушениям деятельности нервной системы и желудочно-кишечного тракта. Пантотеновая кислота входит в состав так называемого кофермента А, при участии которого происходит активирование образующейся в организме уксусной кислоты и других кислотных остатков (ацилов), синтез лимонной кислоты, жирных кислот и стеролов и многих других соединений (см. стр. 414). Установлено, что в животных тканях и клетках бактерий большая часть пантотеновой кислоты содержится именно в виде кофермента А. Более того, показано, что если культивировать дрожжи или молочнокислые бактерии *Lactobacillus arabinosus* на среде, в которой отсутствует пантотеновая кис-

лота, то добавление последней к среде вызывает интенсивное образование кофермента А.

Биотин (*витамин* Н). Биотин является важным фактором роста для дрожжей и ряда других микроорганизмов. Недостаток биотина в диете приводит к поражениям кожи, выпадению волос и поражению ногтей.

Биотин имеет следующее строение:

$$
\begin{array}{l}
\quad\;\; CO \\
\quad / \quad \backslash \\
HN \quad\; NH \\
\;| \qquad\;\; | \\
HC - CH \\
\;| \qquad\;\; | \\
H_2C \quad CH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH \\
\quad \backslash \quad / \\
\qquad S
\end{array}
$$

Приводим содержание биотина в различных пищевых продуктах:

Продукт	*Биотин в гаммах на 1 г продукта*
Пшеница (зерно)	0,05
Пшеничная мука 1-го сорта .	0,007
Дрожжи пивные	0,07
Картофель	0,006
Печень быка	0,96 — 1,12
Мясо	0,02
Яйца	0,09
Молоко	0,05

По-видимому, главным источником биотина для животных и человека является бактериальная микрофлора желудочно-кишечного тракта. В яичном белке содержится вещество, получившее название авидина, которое образует с биотином нерастворимый в воде и биологически неактивный комплекс. Именно поэтому, если животное кормить большим количеством сырого яичного белка, то оно заболевает, обнаруживая типичные признаки недостаточности биотина. Авидин получен в кристаллическом виде и представляет собою глюкопротеид.

Имеющиеся данные о роли биотина в обмене веществ у микроорганизмов показывают, что этот витамин принимает участие в превращениях некоторых аминокислот (аспарагиновой кислоты, серина и треонина). Биотин входит также в состав активной груп-

пы ферментов, катализирующих процесс карбоксилирования и декарбоксилирования жирных кислот, т. е. присоединения и отнятия CO_2, которое сопровождается удлинением или укорочением углеродной цепочки жирной кислоты.

По-видимому, каталитическая функция биотина во всех случаях его участия в обмене веществ заключается в том, что он входит в состав активной группы ферментов, катализирующих реакции присоединения и отнятия углекислого газа.

Нужно думать, что аналогично тому, как имеется в природе целый ряд флавопротеидов, катализирующих различные окислительно-восстановительные реакции, точно так же имеется ряд биотинпротеидов, специфически настроенных на катализ карбоксилирования и декарбоксилирования разнообразных жирных кислот.

Инозит. Так же, как и биотин, инозит является важным фактором роста для дрожжей. Недостаток инозита в диете крыс и мышей вызывает у них остановку роста и выпадение шерсти. Среди ряда изомеров инозита (см. стр. 231) биологической активностью обладает лишь мезо(мио)-инозит, имеющий следующее строение:

```
          H       H
          |       |
   H      C———————C      OH
   |    / |       | \    |
   C      OH     HO      C
   |    \ OH      H /    |
  HO      C———————C      H
          |       |
          H       OH
```

Инозит, соединяясь с шестью молекулами фосфорной кислоты, образует инозитфосфорную кислоту, которая в виде своей кальций-магниевой соли носит название фитина. Фитин чрезвычайно широко распространен в растениях. Особенно большие его количества содержатся в отрубях и в хлопковом жмыхе, из которого его получают заводским путем для использования в качестве лечебного препарата.

```
                  O—PO—(OH)₂
                  |
                  CH
                 /  \
(OH)₂OP—O—CH      CH—O—PO(OH)₂
           |      |
(OH)₂OP—O—CH      CH—O—PO(OH)₂
                 \  /
                  CH
                  |
                  O—PO(OH)₂
```

инозитфосфорная кислота

Пара-аминобензойная кислота. Этот витамин необходим для роста и обеспечения выживаемости молодых животных. Пара-аминобензойная кислота является важным фактором роста для многих микроорганизмов, в том числе и для тех, которые населяют кишечник животных и способны к синтезу ряда витаминов, усваиваемых в той или иной мере организмом хозяина. С этим непрямым способом ее действия, по-видимому, и связано ее стимулирующее влияние на рост молодых животных и птиц. В растениях и животных тканях пара-аминобензойная кислота главным образом связана с белками, полипептидами и аминокислотами, а также содержится в виде ацетильного производного. Весьма важным соединением, в состав которого входит пара-аминобензойная кислота, является водорастворимый витамин, получивший название фолиевой кислоты.

COOH
|
C
HC CH
HC CH
C
|
NH_2

пара-аминобензойная кислота

Фолиевая кислота. Название фолиевая кислота было дано потому, что этот витамин был выделен из листьев (латинское *folium*). Физиологическое действие фолиевой кислоты особенно хорошо изучено на различных животных: цыплятах, индюшатах, обезьянах, собаках, а также на некоторых микроорганизмах (*Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecalis*), для которых она является важным фактором роста. Недостаток фолиевой кислоты в пище цыплят и индюшат вызывает у них задержку роста, анемию и слабое развитие оперения; у обезьян авитаминоз проявляется в заболевании тяжелой формой лейкопении (недостаток в крови белых кровяных телец). Фолиевая кислота оказывает благоприятное терапевтическое действие при лечении некоторых тяжелых форм анемии человека. Вместе с тем имеются данные, свидетельствующие о том, что фолиевая кислота у животных сильно тормозит рост злокачественных опухолей.

Основными источниками фолиевой кислоты являются всякого рода листовые овощи, печень и дрожжи. Интересно, что из всех плодов и овощей наиболее богата фолиевой кислотой земляника,

и, вероятно, этим объясняется известное с давних пор ее благоприятное действие при малокровии.

Фолиевая кислота состоит из остатков глютаминовой кислоты, пара-аминобензойной кислоты и принадлежащего к пуриновым основаниям 2-амино-4-окси-6-метилптерина:

$$HOOC-CH_2-CH_2-\underset{\underset{COOH}{|}}{CH}-NH-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-C_6H_4-NH-CH_2-\text{(2-амино-4-окси-6-птеридил)}$$

остаток глютаминовой кислоты — *остаток пара-амино-бензойной кислоты* — *остаток 2-амино-4-окси-6-метилптерина*

Таким образом, фолиевая кислота является витамином, для синтеза которого необходим другой витамин — пара-аминобензойная кислога, — и такое в физиологическом отношении весьма активное соединение, каким является глютаминовая кислота.

В тканях растений и животных фолиевая кислота находится главным образом не в форме изображенного выше соединения, содержащего один остаток глютаминовой кислоты, но в виде его производных, включающих в себя 3 или 7 остатков глютаминовой кислоты. Различные формы фолиевой кислоты обладают различной физиологической активностью в отношении разных видов животных и микроорганизмов.

Участие фолиевой кислоты в обмене веществ заключается в том, что она в восстановленной форме (тетрагидрофолиевая кислота) является необходимой составной частью (коферментом) ряда ферментов, катализирующих обмен соединений, содержащих один углеродный атом в молекуле, — формальдегида (HCOH) и муравьиной кислоты (HCOOH). Эти соединения являются исходным материалом для биосинтеза пуриновых оснований, некоторых пиримидиновых оснований и некоторых аминокислот (серина, гистидина и метионина).

Липоевая кислота (*тиоктовая кислота, протоген*). Этот витамин необходим для роста некоторых микроорганизмов и простейших. Липоевая кислота представляет собой циклический дисульфид, имеющий следующее строение:

$$\underset{\underset{S\,-\,S}{|\qquad|}}{H_2C \diagdown^{CH_2} \diagup CH}-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-C\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow OH \end{matrix}$$

По-видимому, липоевая кислота играет весьма важную роль в обмене веществ животных и микроорганизмов. В частности, она входит в состав коферментов окислительного декарбоксилирования α-кетокислот (например, пировиноградной и α-кетоглютаровой). При этом, как показали опыты,

проведенные с микроорганизмом *Escherichia coli*, в коферменте окислительного декарбоксилирования α-кетокислот липоевая кислота связана амидной связью с тиаминпирофосфатом.

Высказываются также соображения о важной роли липоевой кислоты в процессе фотосинтеза.

Витамин P (цитрин). Это название объединяет целый ряд веществ, укрепляющих стенки капиллярных сосудов. К веществам, обладающим P-витаминной активностью, относятся чрезвычайно широко распространенные в растительном мире глюкозиды — рутин и гесперидин (см. стр. 196), а также танины чайного листа и винограда. Чрезвычайно высокой P-витаминной активностью обладают концентраты, получаемые из черной смородины.

Витамин B_{12}. Этот витамин является чрезвычайно эффективным при лечении различных форм анемии, в том числе так называемой злокачественной анемии, представляющей собой весьма тяжелое заболевание. В качестве кроветворного фактора витамин B_{12} примерно в 1000 раз более эффективен, чем фолиевая кислота. Весьма важным свойством витамина B_{12} является также его способность повышать использование организмом растительных белков, приближая их по пищевой ценности к животному белку.

Роль витамина B_{12} в обмене веществ заключается в том, что он играет весьма существенную роль в синтезе биологически важных соединений, содержащих метильную группу — CH_3 (в частности метионина).

Витамин B_{12} не содержится в продуктах растительного происхождения и в дрожжах. Главным его источником в пище человека являются животные продукты, особенно печень и почки. Травоядные животные снабжаются витамином B_{12} за счет микрофлоры пищеварительного тракта, особенно рубца. Человек также частично получает витамин B_{12} за счет микрофлоры кишечника.

По-видимому, единственными организмами, способными к биосинтезу витамина B_{12}, являются некоторые микроорганизмы. В настоящее время витамин B_{12} выделен в кристаллическом виде. Его кристаллы имеют красный цвет вследствие наличия в его молекуле кобальта.

Витамин B_{12} объединяет целую группу веществ, которые являются комплексными соединениями трехвалентного кобальта.

Важнейшим представителем группы веществ, объединяемых названием витамин B_{12}, является цианокобаламин, строение которого схематически может быть представлено следующим образом:

$$\left[\begin{array}{lcr} R\text{–}R^{-} & & CN^{-} \\ & Co^{+++} & \\ RRR & & \end{array}\right]$$

цианокобаламин

По А. Тодду и Д. Ходчкин, формула витамина B_{12} (цианокобаламина) следующая:

Другие представители группы витамина B_{12} отличаются от цианокобаламина тем, что вместо группы CN^- содержат молекулу воды (аквокобаламин) или же молекулу аммиака (кобалихром):

$$\left[\begin{matrix} R{-}R^- & & H_2O \\ & Co^{+++} & \\ RRR & & \end{matrix}\right]^+ \qquad \left[\begin{matrix} R{-}R^- & & NH_3 \\ & Co^{+++} & \\ RRR & & \end{matrix}\right]^+$$

аквокобаламин кобалихром

Особый физиологический интерес представляют кобалихромы, в состав которых вместо аммиака могут входить различные аминокислоты, пептиды и белки.

Благодаря своему мощному терапевтическому действию витамин B_{12} в настоящее время привлекает к себе пристальное внимание исследователей.

Витамин C (аскорбиновая кислота). Недостаточное содержание этого витамина в пище приводит к возникновению цинги. Аскорбиновая кислота широко распространена как в растениях, так и в животных. Она играет важную роль в окислительно-восстановительных процессах, происходящих в организме.

Организм человека, обезьяны и морской свинки не способен синтезировать аскорбиновую кислоту и должен получать ее в го-

товом виде с пищей; другие животные способны самостоятельно синтезировать этот витамин.

Важная роль аскорбиновой кислоты и ее участие в окислительно-восстановительных процессах, происходящих в живой клетке, связаны с тем, что этот витамин существует в двух формах — собственно аскорбиновой кислоты и легко образующейся из нее при окислении дегидроаскорбиновой кислоты, которая при восстановлении снова дает аскорбиновую кислоту. Взаимные превращения этих двух форм витамина C показаны ниже:

```
 C=O                               C=O
 |\_______                         |\_______
 |        |                        |        |
 C—OH     |        —2H             C=O      |
 ||       |       ⟶                |        |
 C—OH     O       ⟵                C=O      O
 |        |        +2H             |        |
 HC_______|                        HC_______|
 |                                 |
HO—C—H                            HO—C—H
 |                                 |
 CH2OH                             CH2OH
L-аскорбиновая кислота        дегидроаскорбиновая кислота
```

Взаимопревращения аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот в растительном организме теснейшим образом связаны с ферментативными взаимопревращениями окисленного и восстановленного глютатиона.

Как аскорбиновая, так и дегидроаскорбиновая кислоты физиологически активны и предохраняют от цинги. Аскорбиновая кислота хорошо растворяется в воде и представляет собой бесцветные кристаллики кислого вкуса. Она легко разрушается в растворах, особенно в присутствии воздуха, света и следов меди или железа. Аскорбиновую кислоту на витаминных заводах получают в настоящее время синтетически из глюкозы.

Недостаточно ясен вопрос о химизме образования аскорбиновой кислоты в растениях. Согласно одним предположениям, аскорбиновая кислота образуется в результате конденсации продуктов расщепления сахаров, например оксипировиноградной кислоты $HOOC \cdot CO \cdot CH_2OH$ и глицеринового альдегида $CH_2OH \cdot CHOH \cdot CHO$. С другой стороны, целый ряд исследователей считает, что аскорбиновая кислота образуется из гексоз без предварительного разрыва углеродной цепочки. В частности, имеются данные в пользу взгляда о том, что промежуточным продуктом при превращении гексоз в аскорбиновую кислоту является глюкозо-6-фосфат. Весьма вероятно, что непосредственными предшественниками аскорбиновой кислоты являются D-глюкоза и D-галактоза, точнее образующиеся при окислении этих гексоз соответствующие уроновые кислоты — D-глюкуроновая и D-галактуроновая.

Опыты по введению в созревающие ягоды клубники глюкозы, галактозы, глюкуроновой и галактуроновой кислот, меченых радиоактивным углеродом C^{14}, показали, что в растениях, по-видимому, имеется два независимых пути биосинтеза аскорбиновой кислоты. Один начинается с глюкозы (или галактозы) и идет далее через глюкозо-(или галактозо)-фосфат; другой путь в качестве исходных веществ предполагает глюкуроновую (или галактуроновую) кислоту. Превращение глюкозо-фосфата и глюкуроновой кислоты в аскорбиновую кислоту мы можем представить себе в виде следующей гипотетической схемы:

```
6    COOH                 6    COOH                 [    COOH     ]
5 HO—C—H                  5 HO—C—H                  [ HO—C—H      ]
4 HO—C—H                  4 HO—C—H                  [    C=O      ]
3  H—C—OH    ———→         3  H—C—OH   —2H→          [  H—C—OH     ]
2 HO—C—H                  2    C=O                  [    C=O      ]
1    CHO                  1    CH2OH                [    CH2OH    ]
D-глюкуроновая            D-фруктуроновая                 ↓↑
кислота                   кислота
                              ↓ +2H
                          1    COOH                 [    COOH     ]             O
                          2 HO—C—H                  [ HO—C        ]             ‖
                          3 HO—C—H                  [    ‖        ]             C—┐     1
                          4  H—C—OH                 [ HO—C        ]         HO—C  │     2
                          5 HO—C—H                  [  H—C—OH     ]  —+2H→      ‖  O     
                          6    CH2OH                [    C=O      ]         HO—C  │     3
                                                    [    CH2OH    ]          H—C—┘     4
                          L-гулоновая                                       HO—C—H     5
                          кислота                         ↑↓ +H2O              CH2OH   6
                                                             −H3PO4      L-аскорбиновая
                                                                         кислота
1    CHO                       COOH                 [    COOH     ]
2  H—C—OH                    H—C—OH                 [  H—C—OH     ]
3 HO—C—H       —2H→         HO—C—H      —4H→        [    C=O      ]
4  H—C—OH                    H—C—OH                 [  H—C—OH     ]
5  H—C—OH                    H—C—OH                 [    C=O      ]
6    CH2OPO3H2                 CH2OPO3H2            [    CH2PO3H2 ]
D-глюкозо-6-                6-фосфат D-глю-
-фосфат                     коновой кислоты
```

Наиболее богаты витамином С плоды шиповника, незрелые грецкие орехи, черная смородина, капуста, хвоя.

Приводим содержание витамина С в некоторых пищевых продуктах:

Продукт	*Витамин С в миллиграммах на 100 г продукта*
Печень и селезенка	20 — 50
Мышцы	0,9
Молоко	0,7 — 2,6
Кумыс	20 — 25
Яйца	0
Капуста белокочанная	30 — 40
Укроп	135
Лук-репка	2 — 10
Лук-перо	16,5 — 33
Картофель молодой	20 — 40
Картофель лежалый	7 — 10
Перец	100 — 400
Плоды шиповника (северные)	2000 — 4500
Лимон	55
Мандарин	25 — 45
Яблоки северные	20 — 40
Яблоки южные	5 — 17 (и менее)
Виноград	0,4 — 12
Томаты	20 — 40
Орехи грецкие незрелые	до 3000
Смородина черная	100 — 400
Смородина красная	8 — 16
Хвоя ели и сосны	150 — 250
Зерна злаков непроросшие	0

Таким образом, особенно важными источниками антицинготного витамина в пище являются овощи, в первую очередь картофель и капуста. При варке пищи, а также сушке и консервировании плодов и овощей витамин С может легко разрушаться. Его разрушение происходит в результате окисления, которое ускоряется, как мы уже указывали, следами железа или меди, и особенно сильно — окислительными ферментами. Эти ферменты проявляют свое действие при очистке и измельчении овощей, при лежании продуктов в нарезанном виде и при закладке их в холодную воду; при этом медленное повышение температуры способствует энергичному действию окислительных ферментов и разрушению витамина С. Таким образом, наиболее правильно варить овощи, опуская их сразу в кипящую воду, или же еще лучше на пару́. При сушке овощей разрушение витамина С под действием окислительных ферментов может достигать очень больших величин. Поэтому для того чтобы инактивировать эти ферменты, нарезанные овощи предварительно подвергают так называемой бланшировке, которая заключается

в быстрой их обработке кипящей водой или паром. Инактивирование разрушающих витамин C окислительных ферментов может быть также произведено путем сульфитации нарезанных овощей, заключающейся в обработке их сернистым газом.

В растениях, принадлежащих к семейству *Brassicaceae* — различных видах капусты, редьки, рапса и редиски, наряду со свободной аскорбиновой кислотой содержится ее связанная форма — так называемый аскорбиген. Это вещество, при гидролизе которого образуется свободная аскорбиновая кислота, представляет собою соединение этой последней с индольной группой. Строение аскорбигена соответствует одной из приведенных ниже формул:

```
        CH2———C=CH                          CH2—C═══CH
           O<    >O                             O<    >O
   N      HO—C— CH                       N     CH —C—OH
   H CH2—CH — HC   C=O                   H    O=C   CH—CH—CH2
     |     |    \  /                              \  /    |   |
     OH    OH    O                                 O      OH  OH
```

Обмен аскорбигена в растениях, по-видимому, теснейшим образом связан с обменом триптофана и стимуляторов роста растений, подобных индолилуксусной кислоте (см. стр. 227).

АНТИВИТАМИНЫ

В процессе исследования химической природы и биологического действия витаминов было установлено, что существует целый ряд веществ, инактивирующих витамины и оказывающих на организм действие, противоположное действию этих последних. Такие вещества получили название антивитаминов. По своему строению и свойствам многие антивитамины весьма близки к соответствующим витаминам. Типичным примером подобного антивитамина, представляющего собой структурный аналог соответствующего витамина, является стрептоцид и аналогичные ему так называемые сульфаниламидные препараты. Как видно из сопоставления формул пара-аминобензойной кислоты и стрептоцида, эти соединения весьма близки по своему химическому строению:

```
      COOH              SO2·NH2
       |                  |
       C                  C
     //  \              //  \
   HC     CH          HC     CH
   |      ||          |      ||
   HC     CH          HC     CH
     \\  /              \\  /
       C                  C
       |                  |
      NH2                NH2
```

пара-аминобензойная кислота — стрептоцид

Мы уже указывали ранее (стр. 160), что пара-аминобензойная кислота является важным фактором роста для некоторых микробов. Угнетающее действие стрептоцида и других сульфаниламидных препаратов на этих микробов, по-видимому, объясняется тем, что эти препараты, в силу своего сходства с пара-аминобензойной кислотой, вступают вместо нее в соединение с каким-то ферментом или другим веществом, с которым в процессе обмена веществ обычно реагирует пара-аминобензойная кислота.

Точно так же аналог никотиновой кислоты — пиридин-3-сульфокислота — угнетает рост некоторых бактерий, причем это угнетающее действие может быть нейтрализовано никотиновой кислотой:

```
      CH                      CH
    //  \                   //  \
  HC    C—COOH            HC    C—SO3H
   |    ||                 |    ||
  HC    CH                HC    CH
    \\  /                   \\  /
      N                       N
```

никотиновая кислота — пиридин-3-сульфокислота

Найдена целая группа антивитаминов, угнетающих рост тех микроорганизмов, которые нуждаются в пантотеновой кислоте.

Как видно из приводимых ниже формул некоторых из этих антивитаминов, они являются структурными аналогами пантотеновой кислоты:

пантотеновая кислота $HO-H_2C-C(CH_3)_2-CH(OH)-CO\cdot NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot COOH$

пантоилтаурин $HO-H_2C-C(CH_3)_2-CH(OH)-CO\cdot NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot SO_3H$

пантоилтаурамид $HO-H_2C-C(CH_3)_2-CH(OH)-CO\cdot NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot SO_2\cdot NH_2$

гомопантоилтаурин $HO-H_2C-C(CH_3)_2-CH(OH)-CH_2-CO\cdot NH-CH_2\cdot CH_2-SO_3H$

Аналогом и антивитамином тиамина является пиритиамин. Как видно из приведенных ниже формул, он отличается от тиамина тем, что атом серы замещен группой $-CH=CH-$:

```
                                   CH3
                                   |
       N=C—NH2·HBr                 C=====C—CH2—CH2OH
       |   |                      /      |
CH3—C   C—CH2———— N             |
       ||  ||                      |  \\     |
       N—CH                       Br   CH—S
```

тиамин

```
                                  CH3
                                  |
N=C—NH2 · HBr   C═══C—CH2—CH2—OH
|    |                 /     \
CH3—C  C—CH2——N           CH
||   |              \\       //
N—CH              |  CH—CH
                 Br
```

пиритиамин

Кормление мышей небольшими дозами пиритиамина вызывает у них появление типичных признаков авитаминоза B_1, которые проходят при скармливании животным соответствующих количеств витамина. Точно так же имеются указания, что глюкоаскорбиновая кислота, являющаяся, как это видно из формул, структурным аналогом аскорбиновой кислоты, вызывает у мышей, крыс и морских свинок заболевание, сходное по своим признакам с авитаминозом С.

```
      O                          O
     //                         //
    C ———                 ———C
    |      |               |      |
    C—OH   |               |    C—OH
    ||     O               O    ||
    C—OH   |               |    C—OH
    |      |               |    |
    HC ———                 ———C—H
    |                           |
HO—C—H                         HC—OH
    |                           |
    CH2OH                      HC—OH
                                |
                               CH2OH
```

аскорбиновая кислота — глюкоаскорбиновая кислота

В настоящее время найден целый ряд структурных аналогов, являющихся антагонистами рибофлавина, пиридоксина, биотина, фолиевой кислоты, а также витаминов С, К и Е.

Характерной особенностью подобных антивитаминов является то, что их угнетающее действие сказывается лишь на тех организмах, для нормального роста и жизнедеятельности которых необходим соответствующий витамин. Так, например, микроорганизмы, для роста которых необходим тиамин, угнетаются чрезвычайно малыми количествами пиритиамина; на микробов, которые нуждаются лишь в пиримидиновой и тиазоловой части молекулы тиамина, пиритиамин действует в 10 раз слабее, а на бактерий, совершенно не нуждающихся в тиамине или его компонентах, пиритиамин оказывает лишь очень слабое угнетающее действие.

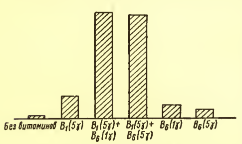
Кроме антивитаминов, являющихся структурными аналогами соответствующих витаминов, открыты антивитамины, представляющие собой белки, специфически связывающие данный витамин. Таким антивитамином белковой природы является авидин, содержащийся в белке яиц и специфически реагирующий с биотином, в результате чего этот последний теряет свою биологическую активность.

В связи с большой ролью антивитаминов в проявлении биологического действия витаминов, а также в связи с тем, что многие антивитамины угнетают рост болезнетворных микробов, исследование химических аналогов витаминов в настоящее время ведется чрезвычайно энергично.

ПОТРЕБНОСТЬ В ВИТАМИНАХ У РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ

Организмами, которые не нуждаются в витаминах и которые, следовательно, могут самостоятельно синтезировать все витамины или провитамины, являются зеленые растения, способные синтезировать все многообразие органических веществ из углекислого газа и воды. Однако некоторые ткани высших зеленых растений, не способные к синтезу витаминов, для своего роста и развития требуют снабжения этими последними, например: корни, камбиальная ткань или же выделенные из семян и растущие в темноте зародыши растений.

Культивируя подобные изолированные ткани высших растений на стерильных средах, содержащих различные комбинации питательных веществ, можно выяснить способность этих тканей к синтезу того или иного витамина и их потребность в снабжении теми или иными веществами, в том числе витаминами. С помощью подобного рода культур растительных тканей был исследован вопрос о необходимости для их нормального роста и развития различных аминокислот и витаминов. Так, например, было установлено, что витамин B_1 оказывает сильное стимулирующее действие на рост изолированных корешков многих растений, культивируемых на искусственных питательных средах. В некоторых случаях это действие значительно возрастает при добавлении в питательную среду наряду с витамином B_1 также и других витаминов, например витамина B_6. Подобное усиление стимулирующего действия одного витамина при добавлении другого ясно видно из рис. 26.



Рнс. 26. Влнянне внтамннов B_1 н B_6 (в гаммах на 50 *мл* пнтательной среды) на рост корней гороха (вес корня)

Необходимо отметить, что вследствие чрезвычайного многообразия типов обмена веществ в растительном мире изолированные ткани различных растений резко различаются по потребности в витаминах. Это ясно видно из данных, характеризующих потреб-

ность изолированных корней различных растений в тиамине, никотиновой кислоте и пиридоксине:

Растения	*Потребность в витаминах*
Лен	Тиамин
Горох, редис, люцерна, клевер, хлопчатник	Тиамин и никотиновая кислота
Морковь	Тиамин и пиридоксин
Томат, дурман, подсолнечник	Тиамин, никотиновая кислота и пиридоксин

Подобные различия имеют место не только в отношении различных витаминов, но также в отношении различных частей молекулы данного витамина. Это положение может быть проиллюстрировано на примере пиримидинового и тиазолового компонента молекулы тиамина:

$S—C—CH_2 \cdot CH_2OH$
$|\quad\;\|$
$HC\;\; C—CH_3$
$\;\diagdown\,\diagup$
$\;\;N$

тиазоловый компонент

$\quad\;\; H$
$\quad\;\; |$
$\quad\;\; C$
$\quad \diagup\!\!\diagup \diagdown$
$\;\; N\;\; C—CH_2 \cdot Br$
$\;\; |\quad\; \|$
$CH_3—C\;\; C—NH_2$
$\quad\;\; \diagdown\!\!\diagdown \diagup$
$\quad\;\;\; N$

пиримидиновый компонент

Изолированные корни гороха требуют для своего нормального роста присутствия в питательной среде либо тиамина, либо обоих компонентов его молекулы — пиримидинового и тиазолового. Изолированные же корни томата могут нормально расти в присутствии лишь одного тиазола и, следовательно, обладают способностью самостоятельно синтезировать пиримидиновую часть молекулы тиамина.

Низшие растительные организмы — грибы и бактерии, так же как и изолированные ткани высших растений, резко различаются по потребности в витаминах. Так, например, если кефирные дрожжи (*Torula kefyr*) для своего нормального роста и развития нуждаются в готовом тиамине, то другие виды того же рода *Torula* могут обходиться без тиамина, так как обладают способностью синтезировать его из пиримидинового и тиазолового компонентов. Точно так же при исследовании 10 различных видов головневых грибов было установлено, что один из них не растет без тиамина, а остальные 9 способны синтезировать тиамин из структурных компонентов его молекулы.

Необходимо отметить, что специфичность биологического действия того или иного витамина на растительный и животный организм весьма тесно связана с химической структурой витамина. При

изменении строения молекулы, иногда даже, казалось бы, незначительном, биологическое действие ослабевает, исчезает совсем или даже становится по своему характеру противоположным действию данного витамина.

В качестве примера можно привести действие структурных компонентов витамина B_1 — пиримидина и тиазола, а также их производных, на рост изолированных корней гороха. Схематически обозначим строение тиазолового и пиримидинового компонента витамина B_1 следующим образом:

```
                                         R6
                                         |
                                         C
                                       //  \
       S——C—R5                         N     C—R5
       |     ||                        |     ||
  R2—C     C—R4                   R2—C     C—R4
       \\   /                            \\   /
         N                                  N
  тиазоловый компонент           пиримидиновый компонент
```

Тогда, по В. Шопферу, действие их различных аналогов на рост корней гороха может быть выражено данными, приведенными в табл. 8.

Таблица 8

Специфичность действия компонентов тиамина и их производных на рост изолированных корней гороха

	№ п/п	R_2	R_4	R_5	Активность в %
I Тиазоловый компонент и его аналоги (в присутствии нормального пиримидинового компонента)	1	H	$—CH_3$	$—CH_2 \cdot CH_2OH$	100 (тиазол тиамина)
	2	H	$—CH_3$	$—CH_2 \cdot CH_2 \cdot Cl$	100
	3	H	$—CH_2OH$	$—CH_2 \cdot CH_3$	100
	4	H	$—CH_3$	$—CH_2 \cdot CHOH \cdot CH_3$	100
	5	H	$—CH_3$	$—CH{=}CH_2$	100
	6	H	$—CH_3$	$—CH_2Br$	90
	7	H	$—CH_3$	$—(CH_2)_3OH$	75
	8	H	$—CH_2 \cdot CH_2 \cdot Cl$	$—CH_3$	75
	9	$—CH_3$	$—CH_3$	$—CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH$	35
	10	H	$—CH_3$	$—CHOH \cdot CH_3$	30
	11	H	$—CH_3$	H	0
	12	$—NH_2$	$—CH_3$	$—CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH$	0
	13	H	$—CH_3$	$—CO \cdot CH_3$	0

	№ п/п	R_2	R_4	R_5	R_6	Активность в %
II Пиримидиновый компонент и его аналоги (в присутствии нормального тиазолового компонента)	1	$—CH_3$	$—NH_2$	$—CH_2Br$	H	100
	2	$—CH_3$	$—NH_2$	$—CH_2 \cdot NH \cdot CSH$	H	100
	3	$—CH_3$	$—NH_2$	$—CH_2 \cdot NH_2$	H	95
	4	$—CH_3$	$—NH_2$	$—CH_2O \cdot C_2H_5$	H	25
	5	$—CH_3$	$—OH$	$—CH_2NH_2$	H	0
	6	$—CH_3$	$—NH_2$	$—CH_2CONH_2$	H	0
	7	$—OH$	$—OH$	$—CH_2OH$	CH_3	0

В настоящее время накоплен значительный материал, характеризующий специфичность действия аналогов различных витаминов на растительный и животный организм.

Некоторые из видов низших растений обладают чрезвычайно сильно выраженной способностью к синтезу определенных витаминов, что имеет большое практическое значение. Е. Н. Одинцовой установлено, что некоторые виды дрожжей значительно усиливают синтез витамина B_1 при добавлении в питательную среду тиазола. При этом образование тиамина происходит в количествах, почти эквимолекулярных добавленному тиазолу. Свою потребность в пиримидине, необходимом для синтеза молекулы тиамина, дрожжевая клетка восполняет за счет каких-то внутренних перегруппировок. Именно таким образом, т. е. путем введения в среду сравнительно дешевых веществ, являющихся исходным материалом для синтеза витамина B_1, изготовляются обогащенные витамином B_1 пекарские дрожжи. Вместе с тем наблюдения М. Н. Мейселя, А. В. Труфанова и Е. Н. Одинцовой показали, что дрожжевая клетка обладает чрезвычайно большой способностью к накоплению содержащегося в окружающей среде тиамина. Искусственное внесение в среду с бродящими дрожжами витамина B_1 уже за один час приводило к накоплению его в клетках в количестве до 1000 γ на грамм сухого вещества дрожжей. Таким образом, дрожжи способны не только чрезвычайно интенсивно синтезировать витамин B_1, но также собирать и концентрировать его. Некоторые микроорганизмы при определенных условиях обладают способностью синтезировать в значительных количествах витамин B_2. Такими микроорганизмами являются, например, дрожжеподобные организмы *Candida Guillermondia* и *Eremothecium ashbyii*. При этом весьма важно то, что синтез рибофлавина протекает особенно интенсивно при определенном составе питательной среды, в частности при определенном содержании в среде солей железа. Таким образом, путем подбора соответствующих условий культуры и рас дрожжей можно достигнуть весьма значительного содержания рибофлавина в пекарских дрожжах. Осуществление этой задачи представляло бы значительный успех в деле обогащения хлеба рибофлавином, содержащимся в муке в весьма незначительных количествах.

Как мы указывали выше, специфическая потребность микроорганизмов в том или ином витамине используется в настоящее время для количественного определения данного витамина. Так, например, для определения тиамина применяют грибок *Phycomyces Blakesleeanus*. При культивирова-

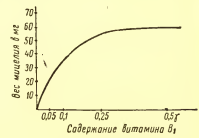


Рис. 27. Влияние тиамина на рост мицелия *Phycomyces*.

нии на питательной среде, содержащей глюкозу, аспарагин и различные неорганические соли, этот грибок реагирует строго определенным образом на добавление к среде различных количеств тиамина. При этом вес мицелия, образующегося за определенное время, при увеличении содержания в среде тиамина возрастает в соответствии с кривой, изображенной на рис. 27. Таким образом, определенный вес мицелия соответствует строго определенному содержанию тиамина в питательной среде, а следовательно, и в анализируемом продукте (например, муке), который был добавлен к среде в качестве источника тиамина. Аналогичные микробиологические методы количественного определения разработаны в настоящее время и широко применяются для никотиновой кислоты, пиридоксина и других витаминов.

ЛИТЕРАТУРА

Андреева Н. А. О новом производном птероилглютаминовой кнслоты— «цитроворум-фактор». «Успехн соврем. биол.», т. 37, вып. 3, стр. 245, 1954.

Андреева Н. А. Витамнны группы фолневой кислоты. Изд. АН СССР М., 1963.

«Биохнмня и фнзиология витамииов» Сб. 6, «Каталнтические фуикцни витамннов». ИЛ, М., 1953.

Букни В. Н., Арешкина Л. Я. и Куцева Л. С. Химня и бнохнмия внтамниа B_{12}. «Успехи соврем. биол.», т. 40, вып. 3(6), стр. 269, 1955.

Вулли Д. Ученне об антнметаболитах. ИЛ, М., 1954.

Красиянский Л. М. Н. И. Луннн — основоположинк учения о витамниах. «Биохнмня», т. 14, вып. 4, стр. 382, 1949.

Кудряшов Б. А. Фнзнологическое н бнохнмнческое значение витамннов. Изд. Московского общества нспытателей прнроды, М., 1953.

Лииеи Ф., Кнаппе И. и Лорх Э. Бнотии-кофермеит транскарбоксилнрования. Труды V Международного биохимнческого конгресса. Снмпозиум IV «Молекулярные основы действия и торможеиня ферментов», стр. 257, Изд. АН СССР, М., 1962.

Мейсель М. Н. Витамины н микроорганнзмы. «Успехн биологнческой химни», т. 1, стр. 390. Изд. АН СССР, М., 1950.

Овчаров К. Е. Роль витамннов в жизнн растений. Изд. АН СССР, М., 1958.

Прокошев С. М. Раневое образование внтамнна С в картофеле. «Биохимия», т. 9, вып. 1, стр. 36, 1944.

Сисакян Н. М. и Васнльева Н. А. Механизм стабилизацин аскорбиновой кислоты сернистой кислотой. «Биохимия», т. 10, вып. 2, стр. 117, 1945.

Смит Л. Витамии B_{12}. ИЛ, М., 1962.

Труфанов А. В. Биохимия и фнзиология витаминов и антнвнтамннов. Сельхозгнз, 1959.

Фнлиппов В. В. Бнотин в растительиом и животном организмах. Изд. АН СССР, М., 1962.

Чайлахян М. Х. Влияиие витаминов на рост и развитие высшнх растеиий. «Природа», № 7, стр. 67, 1958.

Fragner J. (Redaktor) Vitaminy, jejich chemie a biochemie. N.Č.A.V., Praha, 1961.

Harris L. Vitamins in Theory and Practice. Fourth edition. Cambridge University Press, 1955

I s l e r O. Über das Vitamin A und die Carotinoide. «Angew. Chemie», 68, Nr 17/18, 533, 1956.
J a e n i c k e L., Die Folsäure in Stoffwechsel der Einkohlenstoff-Einheiten. «Angew. Chemie», 73, 449, 1961.
K u t a č e k M. Askorbigen roślin rodziny Brassicaceae. «Postępy biochem.», 7, 223, 1961.
L o e w u s F. A. Tracer Studies on Ascorbic Acid Formation in Plants. «Phytochemistry», 2, 109, 1963.
R e e d L. J., The Chemistry and Function of Lipoic Acid. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 18, 319, 1957.
S c h o p f e r W., Plants and Vitamins. Chronica Botanica C°, Waltham, Mass., USA, 1943.

Глава V

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА ВТОРИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Наряду с белками, углеводами, липоидами и витаминами в растениях содержатся различные вещества, называемые обычно веществами вторичного происхождения. Хотя они очень часто содержатся в растениях в небольшом количестве, они все же играют весьма важную роль в обмене веществ у растений.

Многие из этих веществ, например некоторые органические кислоты, образуясь в растении, тотчас же используются клеткой для различных синтетических процессов, почему и не накапливаются в большом количестве и являются промежуточными продуктами обмена веществ. Чтобы выделить их из растения в ощутимом количестве, требуется иногда прервать или как-то изменить цепь закономерных превращений веществ в клетке с тем, чтобы предотвратить их дальнейшее потребление.

Некоторые из этих веществ, накапливаясь в растениях нередко в большом количестве (алкалоиды, каучук, эфирные масла), обусловливают тем самым специфику их обмена.

Отсюда следует, что термин — вещества вторичного происхождения — нужно применять лишь как весьма условный.

Целый ряд этих веществ в значительной степени определяет пищевое и вкусовое достоинство различных продуктов — их вкус и аромат; многие из них широко используются в технике и медицине.

В растениях содержится огромное разнообразие веществ вторичного происхождения. Мы рассмотрим лишь некоторые, наиболее важные из них. Все вещества вторичного происхождения могут быть разделены на следующие группы:

1. Органические кислоты алифатического ряда, играющие чрезвычайно важную роль в обмене веществ и имеющие большое практическое значение как вещества, используемые в различных отраслях народного хозяйства, определяющие вкус многих пищевых продуктов.

2. Ароматические и гидроароматические соединения, встречающиеся в растениях в свободном виде,

а также в виде эфиров, глюкозидов и дубильных веществ. Многие из них имеют большое значение в медицине, различных отраслях промышленности, а также как вещества, от которых зависит вкус и аромат пищевых продуктов.

3. Глюкозиды — вещества, от которых зависит вкус и аромат некоторых пищевых продуктов растительного происхождения. Многие из глюкозидов широко применяются в медицине в качестве лекарственных веществ.

4. Дубильные вещества. Играют важную роль в кожевенной промышленности при дублении кож, а также в качестве веществ, от которых зависит вкус многих пищевых и вкусовых продуктов растительного происхождения.

5. Эфирные масла — легколетучие вещества, содержащиеся во многих растениях. Употребляются в качестве ароматических веществ в парфюмерной промышленности.

6. Каучук и гуттаперча — вещества, играющие исключительно важную роль в ряде отраслей промышленности и получаемые из каучуконосных и гуттаперченосных растений.

7. Алкалоиды — азотистые гетероциклические соединения, оказывающие весьма сильное физиологическое действие на животный организм; многие из них применяются в медицине.

8. Регуляторы роста растений и микроорганизмов. Антибиотики. Разнообразные вещества, принадлежащие к этой группе, оказывают сильное стимулирующее или задерживающее действие на рост высших растений и микроорганизмов. Некоторые из них нашли широкое применение в медицине для борьбы с болезнетворными микробами.

ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ АЛИФАТИЧЕСКОГО РЯДА

Содержащиеся в растениях органические кислоты алифатического ряда подразделяются на две большие группы — летучие (перегоняющиеся с водяным паром) и нелетучие. Органические кислоты растений содержатся в них как в свободном виде, так и в виде солей или эфиров. Из летучих кислот наиболее важными являются муравьиная, уксусная и масляная кислоты.

Муравьиная кислота $H \cdot COOH$. Представляет собой подвижную жидкость с резким запахом. Температура плавления 9°С, температура кипения 101°С. Найдена в яблоках, в малине; в виде сложных эфиров содержится в яблоках.

Уксусная кислота $CH_3 \cdot COOH$. Встречается в различных плодах и растительных соках. В особенно больших количествах образуется при уксуснокислом брожении как продукт жизнедеятельности уксуснокислых бактерий.

Уксусная кислота, по данным С. В. Солдатенкова, составляет до 85% всех органических кислот в зерне пшеницы и кукурузы.

Содержится в свободном виде и в виде различных сложных эфиров в яблоках.

Уксусная кислота широко применяется в пищевой промышленности при изготовлении различных маринадов. Температура плавления 16,5°C; температура кипения 118°C.

Масляная кислота $CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$. Встречается в небольших количествах в разных растениях как в свободном виде, так и в виде сложных эфиров. Свободная масляная кислота обладает сильным и весьма неприятным запахом (запах несвежего сливочного масла). Масляная кислота образуется при маслянокислом брожении. Температура кипения масляной кислоты 162°. В растениях найдены также β-окси-α-кетомасляная кислота $H_3C \cdot CH \cdot OH \cdot CO \cdot COOH$ и γ-окси-α-кетомасляная кислота $HO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH$.

У ряда бактерий (*Bacillus megaterium*, водородные бактерии, фотосинтезирующая бактерия *Rhodospirillum rubrum*, *Azotobacter*, *Rhizobium* и др.) в качестве важного запасного вещества накапливается β-оксимасляная кислота $CH_3 \cdot CH \cdot OH \cdot CH_2 \cdot COOH$ и ее полимеры.

Масляная кислота применяется в парфюмерной и кондитерской промышленностях в виде ее сложных эфиров, являющихся ценными ароматическими веществами. Так, например, метиловый эфир масляной кислоты обладает запахом яблок, этиловый — ананасов и т. д.

Гликолевая (*оксиуксусная*) *кислота* $HO \cdot CH_2 \cdot COOH$. Из воды кристаллизуется в виде иголочек с температурой плавления 78—79°C. Найдена во многих растениях.

Молочная кислота $CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH$. Представляет собой α-оксипропионовую кислоту. Обнаружена во многих растениях. Довольно заметное количество ее обнаружено в листьях малины.

Молочная кислота часто образуется при анаэробном дыхании растений. Молочная кислота в особенно больших количествах образуется при молочнокислом брожении, вызываемом молочнокислыми бактериями — при изготовлении различных молочнокислых продуктов (кефир, кумыс, простокваша), при приготовлении жидких дрожжей для хлебопечения, при заквашивании овощей.

Молочная кислота применяется в кожевенном деле при обработке кож, в текстильной промышленности в качестве протравы, в медицине. Особенно широко она применяется в пищевой промышленности при изготовлении конфет, безалкогольных напитков и т. д. Молочная кислота дает труднорастворимую цинковую соль.

Пировиноградная кислота $CH_3 \cdot CO \cdot COOH$. Простейшая кетокислота. Играет чрезвычайно большую роль как важнейший промежуточный продукт при диссимиляции углеводов в растении, а также при спиртовом и молочнокислом брожении. Найдена в луке, горохе, проростках ячменя и во многих других растениях. Во многих растениях обнаружена оксипировиноградная кислота $HO \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH$.

Глиоксилевая (*глиоксалевая*) *кислота* $HOC \cdot COOH$. Простейшая альдегидокислота. Температура плавления 70—75°C (с кристаллизационной водой) и 98°C в безводном состоянии. Найдена в различных плодах и проростках, в пшенице, картофеле и других растениях. Играет важную роль в обмене веществ у многих микроорганизмов, а также в прорастающих семенах масличных растений.

Щавелевая кислота $HOOC \cdot COOH$. Температура плавления безводной щавелевой кислоты 189°C. Является простейшей дикарбоновой кислотой. Для нее характерна кальциевая соль, нерастворимая в воде и даже в уксусной кислоте. Щавелевая кислота чрезвычайно широко распространена в растениях как в свободном виде, так и в виде солей. Особенно часто она содержится в растениях в виде щавелевокислого кальция, который накапливается иногда в очень больших количествах в форме сросшихся между собой кристаллов. Большие количества щавелевой кислоты содержат некоторые мясистые растения (так называемые суккуленты, например молодило и др.). В плодах и ягодах она содержится в незначительном количестве — от 0,005% до 0,06%. Щавелевая кислота может накапливаться в результате развития на сахарных растворах некоторых плесневых грибов.

Малоновая кислота $HOOC \cdot CH_2 \cdot COOH$. Кристаллизуется из воды в виде пластинок с температурой плавления 134—135°C. Найдена в листьях фасоли, люцерны и других бобовых растений, в плодах лимона, в цветах георгин, а также в зеленых частях растений пшеницы, овса и ячменя.

Янтарная кислота $HOOC — CH_2 — CH_2 — COOH$. Температура плавления 183°C. Образуется в небольшом количестве при спиртовом брожении. Содержится во многих растениях, в частности в ягодах красной смородины, в незрелой вишне, крыжовнике и винограде, а также в черешне и яблоках. Янтарная кислота может накапливаться в результате окисления спирта некоторыми плесневыми грибами.

Щавелевоуксусная кислота $HOOC \cdot CO \cdot CH_2 \cdot COOH$. Является весьма важным промежуточным продуктом обмена веществ, свя-

зывающим между собой превращения углеводов и аминокислот. Играет важную роль в биосинтезе аспарагиновой кислоты, аланина и аспарагина. Найдена во многих растениях.

Альфа-кетоглютаровая кислота $HOOC \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$. Так же, как и щавелевоуксусная кислота, является важным промежуточным продуктом обмена веществ, участвуя в образовании аланина, глютаминовой кислоты и глютамина. Обнаружена во многих растениях.

В различных растениях обнаружен ряд производных α-кетоглютаровой кислоты, как, например, γ-метилен-α-кетоглютаровая кислота $HOOC \cdot C = (CH_2) \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH$ и γ-окси-α-кетоглютаровая кислота $HOOC \cdot CH \cdot OH \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH$.

L-яблочная (*оксиянтарная*) *кислота* $HOOC \cdot CH_2 \cdot CHOH \cdot$ $\cdot COOH$. Температура плавления 100°C. Чрезвычайно широко распространена в растениях. В некоторых плодах, как, например, в рябине, барбарисе и кизиле, содержится только лишь яблочная кислота. В ягодах барбариса ее содержится до 6%. Яблочная кислота преобладает в яблоках и вообще в семечковых и в косточковых плодах. Она отсутствует в цитрусовых плодах и в клюкве. Яблочная кислота содержится в семенах злаков и бобовых, а также в листьях. В растениях табака и махорки ее содержится до 6,5%. Большие количества яблочной кислоты накапливаются в вегетативных органах сочных растений — так называемых суккулентов — молодила, агавы, кактусов. Так, например, у агавы и молодила яблочная кислота составляет до 8—10% сухого вещества. Она содержится также в плодах томатов. Яблочная кислота имеет приятный вкус и безвредна для организма человека. Она применяется при изготовлении фруктовых вод и некоторых кондитерских изделий.

Винная (*диоксиянтарная*) *кислота* $HOOC \cdot CH(OH) \cdot CH(OH) \cdot$ $\cdot COOH$. Встречается в растениях в виде оптически активной D-винной кислоты, а также в виде рацемической DL-винной, или виноградной кислоты. Встречается преимущественно в растениях более южных широт. В значительном количестве D-винная кислота содержится в винограде вместе с L-яблочной и виноградной кислотами. В других плодах и ягодах D-винная кислота либо содержится в весьма незначительном количестве, либо отсутствует. Температура плавления D-формы 168—170°C. При изготовлении и выдержке виноградных вин получаются значительные количества отходов в виде так называемого винного камня, или кремортартара, который представляет собой кислую калиевую соль винной кислоты $HOOC \cdot CH(OH) \cdot CH(OH) \cdot COOK$. Винная кислота и винный камень широко применяются при производстве фруктовых вод, для изготовления химических разрыхлителей теста, в текстильной промышленности при изготовлении протравы и красок, в медицине.

В радиопромышленности и при количественном определении сахара применяется так называемая сегнетова соль, которая представляет собой двойную калий-натриевую соль винной кислоты КООС· · CH(OH) · CH(OH) · COONa.

С винной и виноградной кислотами были произведены классические исследования Луи Пастера, выяснившего природу рацемических соединений и разработавшего методы их разделения на составляющие их оптические изомеры.

Фумаровая кислота HOOC—CH = CH—COOH найдена в некоторых растениях (хохлатке и маковых), в лишайниках и во многих грибах. Температура плавления 286°С (в запаянном капилляре).

Плесневый гриб *Aspergillus fumaricus* при сбраживании сахара образует до 60—70% фумаровой кислоты. Фумаровая кислота является промежуточным продуктом при биосинтезе аспарагиновой кислоты высшими растениями и бактериями.

Лимонная кислота. Кристаллизуется из воды с одной частицей H_2O. Температура плавления безводной формы 153°С.

$$\begin{array}{c} CH_2 \cdot COOH \\ | \\ HO—C—COOH \\ | \\ CH_2 \cdot COOH \end{array}$$

Лимонная кислота очень широко распространена в растениях. В южных широтах ее содержание в них бывает выше, чем в северных. В ягодах — смородине, малине, землянике — лимонная кислота преобладает над яблочной. В плодах цитрусовых содержится главным образом лимонная кислота. В лимонах лимонная кислота составляет до 9% сухого веса. Как показал академик А. А. Шмук, значительное количество лимонной кислоты содержится в листьях и стеблях махорки (7—8% от сухого веса). На этом основано заводское получение лимонной кислоты из отходов махорочной промышленности. Лимонная кислота может быть получена при выращивании на растворах сахаров некоторых плесневых грибов из родов *Aspergillus* и *Penicillium.* Исходя из этого академиком С. П. Костычевым, а также профессором В. С. Буткевичем, были разработаны способы заводского получения лимонной кислоты биохимическим путем с помощью гриба *Aspergillus niger*. Лимонная кислота широко применяется в пищевой промышленности, а также в качестве консерванта при переливании крови.

Изолимонная кислота. Содержится в довольно значительных количествах в сочных растениях (суккулентах). Так, например

$$
\begin{array}{c}
CH_2 \cdot COOH \\
| \\
H \cdot C \cdot COOH \\
| \\
HO \cdot CH \cdot COOH
\end{array}
$$

в молодых листьях *Bryophyllum calycinum*[1] изолимонной кислоты содержится до 18% на сухое вещество листьев. В ягодах ежевики изолимонная кислота составляет $^2/_3$ всех органических кислот. Изолимонная кислота играет существенную роль в качестве одного из важных промежуточных продуктов обмена углеводов и органических кислот в растении.

Цис-аконитовая кислота. Найдена в заметных количествах в растениях аконита (*Aconitum*), от которого и получила свое название.

$$
\begin{array}{l}
COOH \\
| \\
CH_2 \\
| \\
C—COOH \\
\| \\
CH \\
| \\
COOH
\end{array}
$$

По-видимому, довольно широко распространена в растениях и играет в них важную роль в качестве промежуточного продукта диссимиляции углеводов. Цис-аконитовая кислота найдена С. В. Солдатенковым в проростках и листьях злаков.

Кроме описанных выше органических кислот, в растениях содержатся также многие другие кислоты, являющиеся продуктами окисления сахаров. Таковы, например, упоминавшиеся ранее глюконовая и глюкуроновая, а также аскорбиновая кислоты. Таковы также циклические органические кислоты, являющиеся производными бензола C_6H_6 или гексагидробензола C_6H_{12}, — бензойная, салициловая, хинная, галловая, кофейная и другие. Эти циклические кислоты будут рассмотрены в разделе, посвященном гидроароматическим соединениям и дубильным веществам.

АРОМАТИЧЕСКИЕ И ГИДРОАРОМАТИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

Эта группа циклических соединений чрезвычайно широко представлена в растениях. Источником образования ароматических и гидроароматических соединений являются фосфорилированные са-

[1] *Bryophyllum calycinum* — травянистое растение из семейства толстянковых (*Crassulaceae*), часто разводимое в оранжереях.

хара. В растительном организме может происходить циклизация молекулы глюкозы с образованием *инозита* — соединения, имеющего ту же эмпирическую формулу, что и глюкоза $C_6H_{12}O_6$, но представляющего собой циклический шестиатомный спирт, являющийся производным гексагидробензола.

Инозит содержится в растениях в виде ряда изомеров, среди которых наиболее распространен *мезо-инозит* (иначе мио-инозит; см. стр. 231).

Инозит очень легко образуется в растениях из глюкозы. Это показано рядом опытов, в которых глюкоза, меченная радиоактивным углеродом, вводилась в живые ткани растений. Так же легко происходит обратное превращение инозита в глюкозу, ксилозу, гемицеллюлозы и пектиновые вещества. У дрожжей инозит синтезируется, по-видимому, не из глюкозы, а из низкомолекулярных соединений, образующихся при ее расщеплении. Согласно А. Л. Курсанову, инозит является одним из тех промежуточных веществ, через которое осуществляется превращение сахаров в гидроароматические и ароматические соединения. Как указывалось ранее, мезо-инозит относят в настоящее время к витаминам, так как он в очень малых количествах необходим для роста и развития дрожжей, а также для нормальной жизнедеятельности животных.

Мы уже отмечали, что, соединяясь с шестью молекулами фосфорной кислоты, мезо-инозит образует так называемую инозитфосфорную кислоту, чрезвычайно широко распространенную в растениях в виде ее кальций-магниевой соли, которая носит название фитина. Инозитфосфорная кислота расщепляется на инозит и свободную ортофосфорную кислоту под действием фермента фитазы, содержащегося в дрожжах и в проросшем зерне.

Из инозита легко могут образовываться другие гидроароматические соединения. Так, он легко превращается в *хинную кислоту* (температура плавления 162°C), которая найдена во многих расте-

```
          H  OH
           \/
           C
     H   /   \   H
      \ C     C /
  OH /   |     | \ OH
         |     |
       H2C     CH2
           \  /
            C
           / \
         HO   COOH
```

хинная кислота

ниях: в молодых побегах ели (до 10% сухого веса), в табаке, в коре хинного дерева (до 9%), в сливах, яблоках и винограде, в чернике и клюкве, в зернах кофе, плодах айвы, яблок, в ягодах крыжовника, ежевики.

Как показали С. П. Костычев и В. С. Буткевич, хинная кислота с чрезвычайной легкостью может использоваться микроорганизмами. Поскольку хинная кислота входит в состав дубильных веществ, она является как бы связующим звеном между инозитом и дубильными веществами.

Вместе с тем показано, что хинная кислота, меченная радиоактивным углеродом C^{14}, будучи введена в ткани розового куста, очень активно превращается в фенилаланин. Если же учесть также то обстоятельство, что содержание хинной кислоты в растениях сильно колеблется в зависимости от времени года (как это, например, имеет место в побегах ели), то становится очевидным, что хинная кислота является важным промежуточным продуктом обмена веществ у растений.

Хинная кислота при окислении (отнятии двух атомов водорода) дает *5-дегидрохинную кислоту*, найденную в жидких питательных средах, на которых культивировали кишечную палочку (*Escherichia coli*)

При более глубоком окислительно-восстановительном превращении хинной кислоты, сопровождающемся отнятием двух водородных атомов и одного атома кислорода, образуется *шикимовая кислота*, найденная в плодах ядовитого японского растения *Illicium religiosum* (по японски — шикими), во многих других растениях, в камбиальном соке ели и в жидких питательных средах, на которых развивались некоторые бактерии и грибы.

При окислении шикимовой кислоты (отнятии водорода) из нее образуется *5-дегидрошикимовая кислота*, содержащаяся в жидких питательных средах, на которых культивировали некоторые бактерии. Дегидрохинную, дегидрошикимовую и шикимовую кислоты в настоящее время, на основании работ Б. Д. Девиса, считают важнейшими промежуточными веществами, образуемыми растениями и микроорганизмами в процессе биосинтеза гидроароматических и ароматических соединений из сахаров.

В связи с этим необходимо отметить, что экстракты из клеток кишечной палочки (*Escherichia coli*) содержат ферменты, катализирующие синтез 5-дегидрошикимовой кислоты из фосфорилированных сахаров — глюкозо-6-фосфата, глюкозо-1-фосфата, фруктозо-6-фосфата и рибозо-5-фосфата. Эти экстракты катализируют также синтез 5-дегидрохинной кислоты из седогептулозо-1,7-дифосфата.

В растениях, как, например, в проростках маша (*Phaseolus aureus*), также найдены ферменты, которые катализируют синтез дегидрошикимовой кислоты из глюкозо-6-фосфата, глюкозо-1-фосфата, смеси этитрозо-4-фосфата и фосфоенолпировиноградной кислоты. В этих же проростках, а также в проростках гороха найдены ферменты, катализирующие превращение дегидрошикимовой кислоты в шикимовую кислоту и дегидрошикимовой кислоты в дегидрохинную.

На основании всех имеющихся в нашем распоряжении экспериментальных данных мы можем считать, что биосинтез ароматических соединений у растительных организмов идет в соответствии со следующей схемой:

Фотосинтез ⟶ эритрозо-4-фосфат + фосфоенолпировиноградная кислота ⟶ седогептулозо-1,7-дифосфат ⟶ 5-дегидрохинная кислота ⟶ 5-дегидрошикимовая кислота ⟶ шикимовая кислота ⟶ префеновая кислота ---⟶ фенилпировиноградная кислота

шикимовая кислота

5-дегидрошикимовая кислота

5-дегидрохинная кислота

префеновая кислота

фенилпировиноградная кислота

Нужно, однако, отметить, что, кроме указанного пути синтеза ароматических соединений, идущего через шикимовую и префеновую кислоты, существует также путь, основанный на прямой конденсации трех остатков уксусной кислоты (ацетильные остатки) с образованием бензольного ядра.

Инозит легко может дать начало иононовому кольцу, являющемуся составной частью каротина. Ниже приведены структурные формулы *α-ионона* и его изомера *ирона*. Эти вещества обладают запахом фиалок и играют важную роль в парфюмерной промышленности:

α-ионон

ирон

Хинная кислота легко образует фенолы, осуществляя таким образом переход от инозита к ароматическим соединениям.

Хинная кислота легко превращается в один из характерных представителей группы ароматических соединений — дифенол гидрохинон. Образование гидрохинона идет согласно уравнению:

$$C_7H_{12}O_6 + O = C_6H_6O_2 + CO_2 + 3\,H_2O.$$

Гидрохинон (1,4-диоксибензол), как и другие полифенолы, легко окисляется. Он содержится в растениях в составе глюкозида арбутина. Температура плавления 169°С.

Пирокатехин (1,2-диоксибензол), являющийся изомером гидрохинона, встречается в растениях как таковой, а также в виде метилового эфира, называемого *гваяколом*. Оба эти соединения, особенно гваякол, чрезвычайно легко окисляются, образуя темноокрашенные вещества. Температура плавления 105°С.

Флороглюцин (1,3,5,-триоксибензол). Чрезвычайно широко распространен в растениях, входя в состав многих глюкозидов и дубильных веществ. Температура плавления кристаллического флороглюцина (+ 2H₂O) 217°С.

```
      OH              OH               OH
      |               |                |
      C               C                C
    //  \           //  \            //  \
  HC     CH       HC     C—OH      HC     C—O—CH3
  |      ||       |      ||        |      ||
  HC     CH       HC     CH        HC     CH
    \\  /           \\  /            \\  /
      C               CH               CH
      |
      OH
```

гидрохинон   пирокатехин   гваякол

Пирогаллол (1,2,6-триоксибензол) является составной частью дубильных веществ. Температура плавления 132°С.

```
        OH                 OH
        |                  |
        C                  C
      //  \              //  \
    HC     CH       HO—C     C—OH
    |      ||          |     ||
 HO—C      C—OH        HC    CH
      \\  /              \\  /
        CH                 CH
```

флороглюцин   пирогаллол

Необходимо отметить, что образование ароматических соединений в растении может быть происходит и непосредственно из инозита. Так, при отнятии от него трех молекул воды могут образоваться полифенолы, например флороглюцин и пирогаллол.

Все отмеченные выше полифенолы, как уже указывалось, содержатся в растениях главным образом в связанном виде; содержание свободных полифенолов в растениях ничтожно. Кроме полифенолов, растения содержат также ароматические спирты, у которых гидроксильная группа находится в боковой цепи. К их числу принадлежат: *бензиловый спирт*, *коричный спирт*, *салигенин*, *конифериловый спирт*:

```
      CH
     //  \
   HC     C—CH2—OH
   |      ||
   HC     CH
     \\  /
      CH
```

бензиловый спирт

```
      CH
     //  \
   HC     C—CH=CH—CH2OH
   |      ||
   HC     CH
     \\  /
      CH
```

коричный спирт

```
      C—OH
     //  \
   HC     C—CH2—OH
   |      ||
   HC     CH
     \\  /
      CH
```

салигенин

```
      C—OH
     //  \
   HC     C—OCH3
   |      ||
   HC     CH
     \\  /
      C
      |
      CH=CH—CH2OH
```

коннфериловый спирт

Бензиловый спирт и коричный спирт содержатся в виде уксуснокислого, бензойнокислого и других эфиров в эфирном масле жасмина и в некоторых бальзамах, например в белом перуанском бальзаме. Салигенин содержится в виде глюкозида салицина в коре тополей и ив.

Конифериловый спирт встречается в виде глюкозида *кониферина* в камбиальной ткани древесных растений. Он является одним из исходных веществ, из которого под влиянием окислительных ферментов образуется *лигнин* — вещество ароматической природы, пропитывающее клеточные стенки одревесневших тканей растения. В особенно больших количествах лигнин содержится в древесине и соломе. Так, например, в древесине хвойных деревьев содержится до 50% лигнина. Лигнин растворяется при обработке его бисульфитом натрия и сернистой кислотой. На этом основан способ удаления лигнина из древесины, идущей на приготовление целлюлозы и бумажной массы, причем в качестве отброса получаются так называемые сульфитные щелока.

Очень большие количества технического лигнина получаются в качестве отхода на гидролизных заводах при гидролизе древесины кислотами; он используется для изготовления газогенераторных брикетов, но, по-видимому, с успехом может быть использован также для получения активного угля, синтетических смол и пластических масс.

Лигнин представляет собою аморфное вещество; его препараты окрашены в желтый или коричневый цвет. Исследование спектров поглощения лигнина в ультрафиолете с длиной волны от 2 600 до 2 900 ангстремов свидетельствует о наличии в нем ароматического ядра. Элементарный анализ лигнина обнаруживает, что в нем содержится 62—65% углерода и всего лишь 5—6% водорода, что указывает на наличие ненасыщенных ароматических группировок. В лигнине имеются метоксильные группы — OCH_3, содержание которых колеблется в пределах от 10 до 21%, а также свободные гидроксильные группы.

Лигнин принадлежит к числу соединений, наиболее стойких по отношению к микроорганизмам. Лишь некоторые из них, и то сравнительно медленно, разрушают лигнин.

Вопрос о путях образования лигнина в растениях за последние годы интенсивно изучается. Ароматические компоненты лигнина образуются из сахаров, содержащихся в клеточных стенках. При этом из фосфорнокислых эфиров сахаров в качестве промежуточных продуктов, по-видимому, образуются хинная, дегидрохинная, дегидрошикимовая, шикимовая и фенилпировиноградная кислоты. Эта последняя может далее превращаться в конифериловый спирт. Согласно представлениям, развиваемым С. М. Манской, Ф. Нордом и К. Фрейденбергом, непосредственным предшественником ароматической части лигнина является именно конифериловый спирт, который в виде своего оксигидропроизводного содержится в лиг-

нине, а также образуется под действием особого фермента (β-глюкозидазы) из глюкозида кониферина (см. выше), содержащегося в камбиальной ткани растений.

При этом конифериловый спирт под влиянием кислорода воздуха и окислительных ферментов дает, согласно теории академика А. Н. Баха, соответствующую перекись, которая в свою очередь окисляясь далее, образует оксиконифериловый спирт, полимеризующийся затем с образованием уплотненных компонентов лигнина. Эти превращения конифенилового спирта в лигнин могут быть представлены следующей схемой:

```
        OH                                          OH
        |                                           |
        C                                           C
      /   \\         окислитель-                  /   \\
    HC     C—OCH3    ные ферменты               HC     CH—OCH3       ———→
    ||     |         ————————→                  ||     |
    HC     CH           +O2                     HC     CH
      \\   /                                       \\   /
        C—CH=CH—CH2OH                               C—CH—CH—CH2OH
                                                      |    |
                                                      O————O
  конифериловый спирт                               перекись
```

```
                          OH
                          |
                          C
  окислитель-           /   \\
  ные ферменты        HC     C—OCH3       ———→    конденсация с образо-
  ————————→           ||     |                    ванием уплотненных
                      HC     CH                   компонентов лигнина
                        \\   //
                          C
                          |
                          CH2—CO—CH2OH
                          ↑↓  оксиконифериловый спирт
                          OH
                          |
                          C
                        /   \\
                      HC     C—OCH3
                      ||     |
                      HC     CH
                        \\   //
                          C
                          |
                          CH=C(OH)—CH2OH
```

Представление о ферментативном образовании лигнина из кониферилового спирта подтверждено с помощью меченого кониферина. При введении меченого радиоактивным углеродом кониферина в ткани побегов ели радиоактивность обнаруживается в клетках и тканях, подвергающихся одревесиению.

Согласно К. Фрейденбергу, полимеризация продуктов ферментативного окисления кониферилового спирта происходит с образованием свободных радикалов, причем главную роль в этом процессе играет хинон, имеющий следующую структуру:

$$\begin{array}{l} \qquad\quad \cdot\,CH \quad\; CH \\ O{=}C\langle \qquad\quad \rangle C{=}CH{-}\dot{C}H{-}CH_2OH \\ \qquad\quad C \qquad\; CH \\ \quad\;\; / \\ H_3CO \end{array}$$

Точка у углерода в боковой цепи обозначает свободный радикал.

Необходимо отметить, что конифериловый спирт, по-видимому, является не единственным соединением, ферментативное окисление которого приводит к образованию лигнина. Такую же роль могут играть также *п*-оксикоричный спирт, образующийся при восстановлении *п*-оксикоричной кислоты, и синапиловый спирт, являющийся продуктом восстановления синапиловой кислоты (см. стр. 193).

Описанные выше фенолы и ароматические спирты под влиянием ферментов могут легко окисляться, образуя соответствующие альдегиды и кислоты. Некоторые из этих альдегидов и кислот широко распространены в растениях, входя в состав глюкозидов, эфирных масел и дубильных веществ.

Необходимо отметить следующие из ароматических альдегидов.

Бензойный альдегид. Представляет собой маслянистое вещество, входящее в состав глюкозида амигдалина, содержащегося в плодах миндаля. Температура кипения 170°С.

Коричный альдегид. Представляет собой вещество, перегоняющееся с водяным паром; найден в различных эфирных маслах.

Ванилин (3-метиловый эфир 3,4-диоксибензойного альдегида). Белые иглы с температурой плавления 87°С. Входит в состав различных глюкозидов. Особенно много его в плодах ванили. Ванилин широко применяется в мыловаренной и кондитерской промышленностях в качестве душистого вещества. Букет старого коньяка также связан с наличием ванилина — в молодых коньяках его в 10 — 15 раз меньше, чем в старых.

Установлено, что ванилин образуется при ферментативном окислении кониферилового спирта. Это последний содержится в клёпке дубовых бочек, в которых производится многолетняя выдержка коньяков с целью улучшения их аромата.

CH
HC C—C(=O)H
HC CH
CH
бензойный альдегид

CH
HC C—CH=CH—C(=O)H
HC CH
CH
коричный альдегид

CH
HC C—C(=O)H
HOC CH
$COCH_3$
ванилин

Окисление ароматических альдегидов приводит к образованию соответствующих кислот, среди которых нужно указать следующие.

Бензойная кислота. Весьма распространена в растениях, входит в состав различных глюкозидов, эфирных масел и смол. Бензойная кислота содержится в ягодах брусники и клюквы, причем как в свободном виде, так и в составе глюкозида *вакцинина.* Свободная бензойная кислота является антисептиком. Именно этим обстоятельством объясняется трудная сбраживаемость брусничного сока и так называемой моченой брусники. Бензойная кислота легко возгоняется. Температура плавления 121,5С.

Салициловая кислота. Весьма распространена в растениях, главным образом в виде эфиров и глюкозидов. Содержится в незначительном количестве в вишне и в ягодах земляники и малины. Температура плавления 159°С.

Коричная кислота. Встречается во многих растениях, входя в состав смолистых выделений, называемых бальзамами. Температура плавления 134°С.

Кумаровая кислота (2-оксикоричная) — встречается в растениях в виде своего лактона, получившего название *кумарин.* Ку-

марин является твердым ароматическим веществом, от которого зависит запах многих растений, в частности цветов донника. Чистый кумарин и цветы донника применяются в качестве ароматизаторов при изготовлении некоторых сортов курительного табака. Кумарин имеет большое значение в парфюмерной промышленности.

Кофейная кислота (3,4-диоксикоричная кислота). Входит в состав многих дубильных веществ, является составной частью хлорогеновой кислоты, играющей важную роль в процессе дыхания растений. Как показывает название, кофейная кислота содержится в кофе.

```
      CH      O                     CH                       O
     //\     //                    //\                      //
   HC   C — C — OH               HC   C—CH = CH — C — OH
   |    ||                       |    ||
   HC   CH                       HC   CH
     \\/                           \\/
      CH                            CH
```

бензойная кислота

коричная кислота

```
      CH      O                     CH
     //\     //                    //\
   HC   C—C — OH                 HC   C—CH = CH
   |    ||                       |    ||      |
   HC   COH                      HC   C — O—— CO
     \\/                           \\/
      CH                            CH
```

салициловая кислота

кумарин

```
          CH                         O
         //\                        //
       HC   C—CH = CH — C — OH
       |    ||
   HO—C     CH
         \\/
          C—OH
```

кофейная кислота

Коричиая кислота образуется в растениях из фенилпировиноградиой кислоты; в свою очередь в результате окислеиия и метоксилироваиия оиа дает *п*-оксикоричиую, кумаровую, кофейную, феруловую и сииапиловую кислоты. Схема биосиитеза всех этих соедииеиий может быть представлеиа в следующем виде:

шикимовая кислота → префеновая кислота → фенилпировиноградная кислота → фенилмолочная кислота → ($-H_2O$) → коричная кислота → п-оксикоричная кислота → кофейная кислота → феруловая кислота → синапиловая кислота

кумаровая кислота

COOH–CO–CH_2–C_6H_5 (фенилпировиноградная кислота)

COOH–CHOH–CH_2–C_6H_5 (фенилмолочная кислота)

COOH–CH=CH–C_6H_4OH (кумаровая кислота)

COOH–CH=CH–C_6H_2(OCH_3)(OH)(OCH_3) — синапиловая кислота

COOH–CH=CH–C_6H_3(OCH_3)(OH) — феруловая кислота

COOH–CH=CH–C_6H_3(OH)(OH) — кофейная кислота

COOH–CH=CH–C_6H_4OH — *п*-оксикоричная кислота

COOH–CH=CH–C_6H_5 — коричная кислота

ГЛЮКОЗИДЫ

Мы уже указывали выше, что в дисахаридах и трисахаридах молекулы образующих их моносахаридов соединены между собою глюкозидной связью. Если молекула моносахарида соединяется за счет своего глюкозидного гидроксила с каким-либо спиртом неуглеводной природы, то такие соединения называются собственно глюкозидами. Соединенная с сахаром часть молекулы глюкозида носит название аглюкона («не-сахар»). Глюкозиды в большин-

стве случаев являются веществами, обладающими горьким вкусом или специфическим ароматом. Именно поэтому некоторые из них играют важную роль в пищевой промышленности. Так, например,

```
                    HC = O
                      |
                      C
                    /   \\
                  HC     CH
Глюкованилин      ||     |
                  HC     C — OCH3
                    \\   /
                      C
                      |
                      O — C6H11O5
                          остаток β-глюкозы
```

глюкозид *синигрин*, содержащийся в семенах черной горчицы, придает им специфический запах и горький вкус. *Глюкованилин* — глюкозид, находящийся в плодах ванили, при томлении этих последних подвергается ферментативному гидролизу с образованием ванилина и глюкозы. С наличием глюкозида *амигдалина* связан специфический вкус и аромат горького миндаля, а также абрикосовых, сливовых и персиковых косточек. В табаке и чае содержатся весьма близкие по своему строению глюкозиды — *кверцитрин* и *рутин*. Глюкозид *гесперидин* содержится в цитрусовых плодах. В картофеле содержатся глюкозиды *соланины*, иногда придающие картофелю неприятный, горький вкус.

Красящие вещества многих цветов и плодов — *антоцианы* — также представляют собой глюкозиды.

Мы указывали ранее, что в зависимости от того, какая форма моносахарида, α- или β-, входит в состав глюкозида, мы имеем дело с α- или β-глюкозидом. Дисахариды также являются α- или β-глюкозидами, в которых роль аглюкона играет тот или иной моносахарид. Поэтому гидролитическое расщепление глюкозидов и дисахаридов (а также рафинозы) осуществляется одними и теми же ферментами. Так, например, фермент α-глюкозидаза гидролизует все α-глюкозиды и дисахариды, построенные по типу α-глюкозидов — мальтозу и трегалозу. Фермент β-глюкозидаза расщепляет глюкозиды и соответствующие дисахариды, построенные по типу β-глюкозидов, например целлобиозу.

Глюкованилин. Глюкозид, содержащийся в плодах ванили. При томлении плодов под действием β-глюкозидазы происходит расщепление глюкованилина на β-глюкозу и аглюкон ванилин.

Амигдалин. Содержится в листьях и косточках плодов многих растений из семейства розоцветных: абрикоса, горького миндаля, яблони, рябины, вишни, сливы, персика. Особенно большое количество амигдалина имеется в горьком миндале. Амигдалин представляет собою сочетание дисахарида гентиобиозы и аглюкона, который состоит из остатка синильной кислоты и бензальдегида. Аглюкон соединен с остатком гентиобиозы β-глюкозидной связью:

остаток гентибиозы

аглюкон

амигдалин

При кислотном гидролизе амигдалина, кроме составных частей аглюкона, образуются 2 молекулы глюкозы. Подобное же действие оказывает на амигдалин ферментный препарат эмульсин, получаемый из сладкого или горького миндаля и содержащий β-глюкозидазу. Под действием ферментов дрожжей от амигдалина отщепляется лишь одна молекула глюкозы.

Кверцитрин. Глюкозид, содержащийся в табаке, в листьях чая (1—2%), а также в коре некоторых видов дуба. Является типичным представителем флавоновых глюкозидов, образующих многие желтые и оранжевые красящие вещества растений. Эти глюкозиды в качестве аглюкона содержат производные флавона или оксифлавона (флавонола):

флавон

флавонол

В исследовании красящих веществ растений, являющихся производными флавона и оксифлавона, важную роль сыграли работы польского химика С. Костанецкого.

В кверцитрине аглюкон, называемый кверцетином, соединен глюкозидной связью с остатком рамнозы:

```
                                H
         CH  O                C=C—OH
        /  \\ / \            /      \
HO—C    C    C—C              CH—OH
   ||   |    ||            \\      //
   ||   |    ||              C—C
  HC    C    C               H   H
     \\/  \ /  \
      C    C    O— остаток рамнозы
      |    ||
      OH   O
```

Кверцетин является красящим веществом луковой шелухи. Содержится в пыльце растений, например кукурузы, в хмеле, в чае. К кверцитрину близок по своему строению глюкозид *рутин*, в котором аглюкон также представляет собой кверцетин. Рутин содержится во многих растениях, в том числе в зеленых частях растения гречихи, в цветках черной бузины, в табачных листьях.

Глюкозиды группы кверцитрина являются хорошим примером «семейства» веществ, весьма близких по своему составу и строению и имеющих общее происхождение. Так, например, в кожице яблок обнаружены следующие представители этой группы, которые содержат в качестве аглюкона кверцетин, но отличаются от кверцитрина природой содержащегося в них сахарного остатка:

Глюкозид	*Сахар*
Кверцитрин	Рамноза
Гиперин	Галактоза
Изокверцитрин	Глюкоза
Авикулярин	Арабиноза
Рутин	Рутиноза (дисахарид, состоящий из остатков глюкозы и рамнозы)

Гесперидин. Глюкозид, аглюкон которого также является производным флавона. Гесперидин чрезвычайно широко распространен в растениях. Значительное количество его содержится в кожуре плодов цитрусовых растений. Он наряду с рутином и другими веществами обладает свойством регулировать проницаемость и хрупкость капилляров. При полном гидролизе дает глюкозу, рамнозу и аглюкон. Строение гесперидина таково:

```
                                     CH    O H          CH—C—OH
 остаток     остаток                  //\  / |         //      \\
 рамнозы  —  глюкозы  —O—C         C     C—C            C—OCH3
                        |         ||     |   \\        //
                        |         ||     |     CH=CH
                        HC        C      CH2
                          \\     / \    /
                            C          C
                            |          ||
                            OH         O
```

Антоцианы. Весьма близки к флавоновым глюкозидам красящие вещества многих цветов и плодов, изученные одним из крупнейших немецких биохимиков Р. Вильштеттером и называемые антоцианами. Антоцианы представляют собой глюкозиды, в которых остатки глюкозы, галактозы и рамнозы связаны с окрашенным аглюконом, принадлежащим к группе антоцианидинов. Эти последние близки к производным флавонола, но содержат вместо карбонильной группы CO оксониевую группу, содержащую четырехвалентный кислород, легко присоединяющий к себе кислоты.



Вильштеттер Рихард (1872—1942)

Наиболее распространенным в растениях антоцианидином является *цианидин*, который в виде хлористого производного имеет следующее строение:

```
                                            OH
          CH    O—Cl    H                   |
        //  \  /   \\   |                   C
  HO—C       C       C——C          C——————C
     |       |       ||   \\              \\
     |       |       ||    C=====C          C—OH
     HC      C       COH   |      |        /
       \\   / \\    /      H      H
          C      CH
          |
          OH
```

хлористый цианидин

Цианидин в соединении с двумя молекулами глюкозы образует красящее вещество цветов василька. Он также входит в состав

красящих веществ плодов вишни, сливы, черной смородины и брусники. Производным цианидина является аглюкон красящего вещества антоциановой природы, содержащегося в кожуре плодов винограда, — энидин.

Энидин имеет следующее строение:

```
                               H
                               |
          CH   O—Cl            C——C—O—CH3
        //  \ //  \          //     \\
HO—C     C     C——C           C—O—CH3
   |     |     ||   \\       /
  HC     C     COH    C===C
    \\  / \\  /       |   |
      C     CH        H   OH
      |
      OH
```

хлористый энидин

Соединяясь с молекулой глюкозы, энидин образует глюкозид *энин*, являющийся красящим веществом европейских красных сортов винограда.

Производными цианидина является ряд других антоцианидинов, представляющих собой аглюконы очень многих красящих веществ, относящихся к группе антоцианов. Они отличаются от цианидина структурой третьего бокового цикла. Это видно из нижеследующих схематических структурных формул:

Название антоцианидина	*Строение бокового цикла*
Пеларгонидин	—⟨ ⟩OH, OH
Дельфинидин	—⟨ ⟩OH, OH, OH
Мальвидин	OCH_3, —⟨ ⟩OH, OCH_3
Пеонидин	OCH_3, —⟨ ⟩OH
Петунидин	OCH_3, —⟨ ⟩OH, OH

Выше, на примере флавоновых глюкозидов яблок, мы отмечали, что обычно они содержатся в том или ином растении в виде целого ряда родственных соединений.

То же самое мы должны отметить и в отношении антоцианов.

Хорошим примером, иллюстрирующим это положение, являются антоцианы картофеля. В цветах и клубнях культурного картофеля обнаружено 10 различных антоцианов. При более детальном исследовании шести из них было показано, что они состоят из следующих компонентов:

Аглюкон	*Сахар*
Пеларгонидин	5 - глюкозидо-3-рамнозилглюкозид
Пеларгонидин	3 - рамнозилглюкозид
Цианидин	5 - глюкозидо-3-рамнозилглюкозид
Пеонидин	5 - глюкозидо-3-рамнозилглюкозид
Петунидин	5 - глюкозидо-3-рамнозилглюкозид
Мальвидин	5 - глюкозидо-3-рамнозилглюкозид

Таким образом, все эти антоцианы весьма близки друг к другу и естественно возникает мысль об их происхождении из какого-то общего предшественника. Более того, близость структуры аглюконов флавоновых и антоциановых глюкозидов приводит к мысли о том, что в растениях легко происходят взаимные превращения этих соединений и что все они синтезируются в растениях из какого-то общего предшественника в результате ферментативных реакций окисления или восстановления, гидроксилирования глюкозидирования, метилирования или ацилирования.

Синигрин. Семена сарептской горчицы (*Brassica juncea*), черной горчицы (*Sinapis nigra*) и хрен содержат своеобразный глюкозид синигрин, в состав которого входит сера.

Строение синигрина следующее:

$$\begin{array}{l} CH_2-CH=CH_2 \\ | \\ C-S-\underbrace{C_6H_{11}O_5}_{\text{Остаток D-глюкозы}} \\ \| \\ N-O-SO_3-K^+ \end{array}$$

В семенах белой горчицы (*Sinapis alba*) содержится глюкозид *синальбин*:

$$\begin{array}{l} \quad O\cdot SO_2O\cdot C_{16}H_{24}O_5N \\ C\!\!\left\langle\!\!\begin{array}{l} \\ S-C_6H_{11}O_5 \\ \end{array}\right. \\ \quad N-CH_2C_6H_4OH \end{array}$$

Синигрин и синальбин являются тиоглюкозидами, в которых сахар связан через серу. Эти глюкозиды содержатся в семенах ряда растений из семейства крестоцветных. Под действием ферментов, содержащихся в хрене и в семенах горчицы, синигрин расщепляется, причем образуется эфирно-горчичное масло, придающее горчице и хрену характерный для них жгучий вкус.

Ферментативное расщепление синигрина необычайно сильно стимулируется витамином С; это стимулирующее действие используется для ультрамикроопределения витамина С.

Соланины. Глюкозиды, содержащиеся в ботве, клубнях и особенно в ростках картофеля, в баклажане, в плодах паслена. В клубне картофеля их содержание обычно весьма незначительно, причем сконцентрированы они главным образом в наружных слоях, отходящих в очистки. Изредка встречаются образцы картофеля с резко повышенным содержанием соланинов в клубнях; чаще всего это наблюдается на недозрелом картофеле или в клубнях, хранившихся на свету.

Соланины принадлежат к группе глюкозидов, в которых аглюкон является производным фенантрена. Эту группу глюкозидов, распространенных в растениях из семейства пасленовых, иначе называют также глюкоалкалоидами. В картофеле Р. Куном найдено шесть глюкоалкалоидов, у которых аглюкон один и тот же (соланидин), но различны связанные с ним остатки сахаров. Одним из этих алкалоидов является α-соланин, строение которого представлено ниже:

остаток глюкозы $O_5H_{11}C_6$

остаток галактозы $O_3H_9C_6$—O—

остаток рамнозы $O_4H_{11}C_6$

α-соланин

Особенности состава других глюкоалкалоидов картофеля ясно видны из сопоставления их структурных компонентов:

α-соланин: соланидин + галактоза + глюкоза + рамноза;
β-соланин: соланидин + галактоза + глюкоза;
γ-соланин: соланидин + галактоза;
α-чаконин: соланидин + глюкоза + рамноза + рамноза;
β-чаконин: соланидин + глюкоза + рамноза;
γ-чаконин: соланидин + глюкоза.

Таким образом, глюкоалкалоиды картофеля представляют собою группу веществ, весьма близких по своему составу и являющихся как бы различными промежуточными веществами при биосинтезе α-соланина.

В диком картофеле *Solanum demissum* содержится *демиссин*, весьма близкий к α-соланину, но несколько отличающийся от него по своему составу и строению. В то время, как ботва культурного картофеля поедается

личинками колорадского жука, *Solanum demissum* оказывается устойчивым по отношению к этому опасному вредителю картофеля. Устойчивость к колорадскому жуку связывают с действием демиссина на личинок жука.

К этой же группе глюкозидов, у которых аглюкон является производным фенантрена, принадлежат также широко применяемые в медицине «сердечные глюкозиды», содержащиеся в ряде растений (из родов *Strophanthus*, *Digitalis* и др.). Так называемые *сапонины* также представляют собою глюкозиды с аглюконами, являющимися производными фенантрена. Сапонины — аморфные, хорошо растворимые в воде ядовитые вещества, которые обладают свойствами давать мыльноопалесцирующие, сильно пенящиеся растворы. Сапонины не содержат азота. При введении в кровь они вызывают гемолиз, т. е. растворение красных кровяных телец. При гидролизе сапонины, кроме аглюкона, дают глюкозу, галактозу, арабинозу и метилпентозы. Ядовитость семян куколя, отбираемых при очистке зерна специальными машинами — куколеотборниками, объясняется именно наличием в них сапонина.

Во многих растениях содержатся глюкозиды, чрезвычайно легко гидролизирующиеся под действием слабых кислот. Их легкая гидролизуемость объясняется наличием в составе аглюкона фуранового кольца. Типичным представителем глюкозидов подобного типа является *аукубин*, содержащийся в значительных количествах в семенах и листьях японского декоративного растения *Aucuba japonica* и в тканях гуттаперченосного дерева эвкомии.
Аукубин, по-видимому, имеет следующее строение:

```
              O— остаток
              |  глюкозы
     HC———C
     ||      ||     /CHOH—CH2
     HC     C—CH         |
       \  /      \CHOH—CH2
        O
```

ДУБИЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Под названием *дубильные вещества* объединяют обычно вещества, содержащиеся во многих растениях и обладающие способностью превращать недубленые шкуры в дубленую кожу. Явление дубления основано на том, что дубильные вещества осаждают белки шкуры, образуя с ними нерастворимые соединения. Однако такое определение является весьма условным, так как имеется ряд соединений, весьма близких по своей химической природе к дубильным веществам, но не оказывающих дубящего действия на кожу. С другой стороны, дубление можно осуществить с помощью веществ, не имеющих никакого отношения по своей химической природе к дубильным веществам. Такими веществами являются, например, хромовые соли, формалин.

Дубильные вещества обладают вяжущим вкусом и имеют большое значение в пищевой промышленности, так как определяют пи-

щевую и вкусовую ценность многих плодов и пищевых продуктов, например виноградных вин, чая, какао, кофе.

Дубильные вещества легко окисляются под действием окислительных ферментов, превращаясь при этом в коричневые и красные вещества. Примером окисления дубильных веществ с образованием таких темноокрашенных соединений является побурение поверхности разрезанного яблока или механически поврежденного чайного листа.

В выяснении строения дубильных веществ важную роль сыграли исследования Эмиля Фишера и К. Фрейденберга.

Дубильные вещества разделяют на две группы:

1) соединения, представляющие собой по своей химической природе эфиры ароматических оксикарбоновых кислот. Дубильные вещества, принадлежащие к этой группе, гидролизуются на составляющие их компоненты под действием кислот или фермента таназы;

2) конденсированные дубильные вещества, не обладающие эфирным характером, ядра которых связаны между собою через углеродные атомы. К этой группе принадлежат так называемые *катехины*, весьма близкие по своей химической природе к антоцианам и производным флавона или флавонола.

Многие из дубильных веществ первой группы являются производными галловой и протокатеховой кислот:

```
         OH                      OH
         |                       |
         C                       C
       // \                    // \
  HO—C     C—OH             HC     C—OH
     |     ||                |     ||
     HC    CH                HC    CH
       \\ /                    \\ /
         C                       C
         |                       |
        COOH                    COOH
```

галловая кислота — протокатеховая кислота

В некоторых растениях галловая кислота содержится не только в виде дубильных веществ, но также в свободном виде, например в сумахе, в чайном листе, дубовой коре, корнях гранатового дерева.

Протокатеховая кислота в свободном виде содержится в листьях винограда и в некоторых плодах.

Фенолкарбоновые кислоты — галловая, протокатеховая, кофейная и другие, обладая фенольными и кислотными группами, могут реагировать друг с другом, образуя соединения типа сложных эфиров, называемые *депсидами*. Если в реакции участвуют

две молекулы фенолкарбоновых кислот, то получается дидепсид, если три — тридепсид и т. д.

Так, например, соединение двух молекул галловой кислоты приводит к образованию дидепсида — *мета-дигалловой кислоты*, играющей большую роль при образовании дубильных веществ. Однако сама она обладает слабыми дубящими свойствами. Мета-дигалловая кислота получила свое название потому, что при образовании депсида в реакцию вступает гидроксил, находящийся в мета-положении по отношению к карбоксилу. Вторым примером депсида является *хлорогеновая кислота*, очень широко распространенная в растениях и в особенно большом количестве содержащаяся в прорастающих семенах подсолнечника и зернах кофе.

Хлорогеновая кислота представляет собой типичный дидепсид, состоящий из остатков кофейной и хинной кислот. Она не обладает дубящим действием. Как показал А. И. Опарин, хлорогеновая кислота играет важную роль в процессе дыхания растений.

мета-дигалловая кислота

хлорогеновая кислота

Галловая и мета-дигалловая кислоты входят в состав большинства гидролизуемых дубильных веществ, принадлежащих к первой группе. Они объединены в них с глюкозой по типу сложных эфиров. Например, так называемый китайский таннин — дубильное вещество китайских дубильных орешков — представляет собой смесь различных сложных эфиров глюкозы и галловой или мета-дигалловой кислот. По-видимому, главной составной частью китайского таннина, так же как и таннина из листьев сумаха и из дубовой коры, является сложный эфир, имеющий приблизительно следующую структуру:

```
       CH2 · O · дигалловая кислота
        |
 ┌──── CH
 |      |
 |     CH · O · дигалловая кислота
 |      |
 O     CH · O · дигалловая кислота
 |      |
 |     CH · O · дигалловая кислота
 |      |
 └──── CH · O · дигалловая кислота
```

Мы уже указывали, что в основе строения дубильных веществ, принадлежащих ко второй группе (конденсированных дубильных веществ), лежат производные флавонолов и антоцианов, называемые **к а т е х и н а м и**. Таким образом катехины, являясь основной структурной единицей многих дубильных веществ, связывают между собой две важные группы растительных веществ — антоциановые и флавоноловые пигменты, с одной стороны, и дубильные вещества, с другой. Наиболее хорошо изучены следующие представители группы катехинов — *катехин* и *галлокатехин*:

```
         H
         |                              OH
         C    OH          H             |
       //  \  /  \        C ─── C
HO ─ C      C      C ─── C               C ─ OH
     |      ||     |      C ═══ C
     HC     C      C  /H   H             |
      \\   / \    /  \                  OH
         C    CH2     OH*
         |
         OH
```

галлокатехин

```
          H
          |
          C    OH             H       OH
        //  \  / \|            |       |
  HO—C     C     C——C<    C——C     >C—OH
      |      ||     |       \\ C——C //
     HC     C     C<H         H      H
       \\  / \  /   \OH*
          C    CH2
          |
          OH
```

катехин

Галлокатехин и катехин, вступая гидроксильной группой, отмеченной нами звездочкой, в реакцию с галловой кислотой, дают сложные эфиры — катехин- или галлокатехингаллаты. Катехины содержатся в дубильных веществах как в свободном, так и в связанном виде в качестве сложных эфиров галловой кислоты. Так, например, А. Л. Курсанов и его сотрудники показали, что дубильные вещества зеленого чайного листа содержат около 12% свободной галловой кислоты, около 78% катехингаллатов и некоторое количество свободных катехинов.

Виноградный таннин в качестве существенного компонента содержит катехин. Весьма интересно то обстоятельство, что содержание катехина в препаратах дубильных веществ, выделяемых из виноградных косточек в разные периоды развития виноградной ягоды, весьма различно.

Так, например, по данным С. В. Дурмишидзе, в июле содержание катехина в препаратах дубильных веществ, полученных из косточек, составляет около 70%, а в сентябре—всего лишь 20%. Такое резкое изменение содержания катехина свидетельствует о его значительной физиологической активности и о том, что дубильные вещества в процессе роста и развития растения подвергаются глубоким изменениям.

Катехины и их галловые эфиры могут легко окисляться под действием окислительных ферментов. При этом, как показал Курсанов с сотрудниками, происходит уплотнение, в результате которого образуются более высокомолекулярные дубильные вещества, состоящие из нескольких соединенных между собой молекул катехинов или катехингаллатов. Этот процесс окислительного уплотнения происходит во время производства черного чая из зеленого чайного листа.

ЭФИРНЫЕ МАСЛА И СМОЛЫ

Вещества, принадлежащие к этой группе, в большинстве случаев нерастворимы в воде, но растворяются в различных органических растворителях. Они образуются и выделяются в особых

органах растений: эфирные масла — в железистых волосках, чешуйках, смолы — в смоляных ходах. Эфирные масла и смолы обладают определенным ароматом, которым и обусловлен запах многих растений. Эфирные масла перегоняются с водяным паром. Они широко применяются в парфюмерной и мыловаренной промышленности, в косметике и фармацевтической промышленности, в пищевой промышленности при изготовлении конфет и различных напитков. Некоторые семена, содержащие эфирные масла, как, например, кориандр и тмин, применяются в качестве ароматических приправ в хлебопекарной промышленности. Среди эфирных масел особое значение имеет скипидар, применяемый в целом ряде отраслей химической промышленности в качестве растворителя и сырья для синтезов, например для синтеза камфоры.

Эфирные масла, содержащиеся в растениях или цветах, могут быть выделены из них различными способами. Самым простым способом является отгонка их с водяным паром. Однако этот способ применяется не так часто, поскольку при перегонке с паром теряется часть летучих ароматических веществ. В большинстве случаев душистые вещества растений выделяют путем отжима, экстракции при помощи низкокипящих растворителей или путем энфлеража. Этот последний способ заключается в том, что части растений или цветы смешивают со свиным или говяжьим жиром и эту смесь оставляют на некоторое время. При этом жир поглощает и растворяет в себе душистые вещества, которые затем экстрагируются из жира спиртом и подвергаются дальнейшей очистке от растворимых в спирте глицеридов путем вымораживания.

Некоторые эфирные масла ценятся очень дорого. Особенно дорогим является розовое масло. Розовое масло наиболее высокого качества получают в Болгарии, в окрестностях города Казанлык. По своей химической природе эфирные масла представляют собой обычно смесь разнообразных веществ. Однако наиболее важными и наиболее часто встречающимися среди составных частей эфирных масел являются терпены и их кислородные производные.

Терпенами называются углеводороды, принадлежащие к алифатическому или циклическому ряду, содержащие в своей молекуле в большинстве случаев 10 атомов углерода, с общей формулой $C_{10}H_{16}$. Все терпены разделяют на следующие группы:

1) алифатические терпены, характеризующиеся наличием трех двойных связей;

2) циклические терпены, которые могут содержать в молекуле один, два или три цикла.

Алифатические терпены тесно связаны взаимными переходами с циклическими терпенами. В составе эфирных масел растений собственно алифатические терпены играют незначительную роль. Гораздо более важными и распространенными являются их кислородные производные — альдегиды и спирты. В основе строения алифатических терпенов лежит молекула изопрена, которая, как из-

вестно, лежит также в основе строения каротиноидов, каучука и гуттаперчи:

$$CH_2=C(CH_3)-CH=CH_2$$

изопрен

Можно назвать здесь в качестве типичного представителя алифатических терпенов *мирцен*, содержащийся в ряде эфирных масел. Особенно большое его количество (до 52%) содержится в эфирном масле сумаха — ценного дубильного растения, произрастающего в южных областях СССР.

$$(H_3C)_2C=CH-CH_2-CH_2-C(=CH_2)-CH=CH_2$$

мирцен

От 30 до 50% мирцена содержится в эфирном масле хмеля.

Наиболее важными и распространенными представителями кислородных производных алифатических терпенов являются *линалоол*, *гераниол* и *цитронеллол*. Все они представляют собой спирты. Их структура показана ниже:

$$(H_3C)_2C=CH-CH_2-CH_2-C(OH)(CH_3)-CH=CH_2$$

линалоол

$$(H_3C)_2C=CH-CH_2-CH_2-C(CH_3)=CH-CH_2OH$$

гераннол

$$(H_3C)_2C=CH-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-CH_2OH$$

цитронеллол

Линалоол содержится в цветах ландыша, в апельсинном и кориандровом масле; он имеет большое значение в парфюмерии и применяется как таковой или же в виде уксуснокислого эфира. Линалоол — жидкость с запахом ландыша. Температура кипения 197—199°C.

По-видимому, аромат персиков обусловлен различными сложными эфирами линалоола — уксуснокислым, муравьинокислым, валериановокислым и другими.

Гераниол встречается в ряде эфирных масел, например в масле эвкалипта.

Цитронеллол обладает запахом розы и содержится в розовом, гераниевом и других маслах. Гераниол и цитронеллол составляют главную часть розового масла.

При окислении гераниола образуется соответствующий альдегид, получивший название *цитраля*. Цитраль является смесью двух изомерных форм α и β:

$$\begin{matrix} H_3C \searrow \\ H_3C \nearrow \end{matrix} C{=}CH{-}CH_2{-}CH_2{-}\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}}{=}CH{-}\underset{\displaystyle H}{\underset{|}{C}}{=}O$$

β-цитраль

$$\begin{matrix} H_2C \searrow \\ H_3C \nearrow \end{matrix} C{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}}{=}CH{-}\underset{\displaystyle H}{\underset{|}{C}}{=}O$$

α-цитраль

Цитраль содержится в померанцевом и других эфирных маслах. Большой интерес представляет то обстоятельство, что цитраль, взаимодействуя с ацетоном, может превращаться в циклическое соединение — ионон, упоминавшийся нами ранее (см. стр. 185) и входящий в состав молекулы каротина, а также витамина А. Это превращение цитраля в циклическое шестичленное соединение имеет большое значение как пример образования циклических соединений из соединений с открытой цепью.

По-видимому, образование циклических соединений в растении может идти не только путем превращения глюкозы в инозит (см. стр. 183), но также путем конденсации различных алифатических альдегидов и кетонов, подобно тому, как это имеет место при образовании ионона из цитраля и ацетона.

Мы уже отмечали ранее, что ионон и его изомер ирон обладают запахом фиалки и потому находят широкое применение в парфюмерной промышленности.

Среди моноциклических терпенов наиболее распространенным и важным является *лимонен*. Он содержится в скипидаре, тминном масле, в масле укропа и во многих других растениях. Строение лимонена было выяснено благодаря блестящим исследованиям русского химика Е. Е. Вагнера, работы которого в области химии терпенов являются классическими.

Широко распространены в растениях также кислородные производные моноциклических терпенов.

Среди них можно отметить вторичный спирт — *ментол*, составляющий главную часть (до 70%) эфирного масла перечной мяты, и циклический кетон — *карвон*, содержащийся в эфирных маслах тмина и укропа:

H_3C CH_2 / C / CH / H_2C CH_2 / H_2C CH / C / CH_3
лимонен

H_3C CH_3 / CH / CH / H_2C CHOH / H_2C CH_2 / CH / CH_3
ментол

H_3C CH_2 / C / CH / H_2C CH_2 / HC CO / C / CH_3
карвон

Среди бициклических терпенов наибольшее значение имеют *пинен* и *камфен*, а также их кислородные производные — *борнеол* и *камфора*. Необходимо отметить, что в разработке основных положений химии бициклических терпенов очень важную роль сыграли работы ряда выдающихся наших отечественных химиков — уже упоминавшегося Е. Е. Вагнера, давшего правильное решение проблемы строения пинена и камфена, Л. А. Чугаева, Ф. М. Флавицкого, академиков А. Е. Арбузова и С. С. Наметкина, а также Г. В. Пигулевского.

К бициклическим терпенам относятся терпены с одной связью, проходящей сквозь шестичленное кольцо. Строение пинена и камфена таково:

CH / H_2C CH_2 / $H_3C-C-CH_3$ / HC CH / C / CH_3
пинен

CH / H_2C C CH_3 CH_3 / CH_2 / H_2C $C=CH_2$ / CH
камфен

Изображенные выше структурные формулы показывают, что молекула пинена состоит из комбинации шестичленного и четырех-

членного кольца, в то время как молекула камфена построена симметрично и состоит из двух пятичленных колец. П и н е н является составной частью многих эфирных масел и главным компонентом скипидара. Он обладает характерным скипидарным запахом, легко окисляется на воздухе, превращаясь в смолообразные продукты. Камфен содержится в пихтовом, лавандовом, кипарисовом и других эфирных маслах.

Борнеол является вторичным спиртом, содержащимся в камфарном, лавандовом, розмаринном и пихтовом эфирных маслах. Он является твердым телом. При окислении борнеола образуется камфора, которая содержится в эфирных маслах многих растений.

CH
H_2C CH_2
$H_3C—C—CH_3$ H
H_2C C OH
C
CH_3
борнеол

CH
H_2C CH_2
$H_3C—C—CH_3$
H_2C CO
C
CH_3
камфора

Камфора, так как как и борнеол, является твердым телом. Камфора содержится в древесине и листьях камфорного лавра, который раньше был единственным источником получения камфоры. В настоящее время камфору получают в большом количестве из одного вида полыни (*Artemisia astrachanica*), растущей в диком состоянии в южных степных областях СССР, а также синтетическим путем из скипидара. Камфора широко применяется в медицине в качестве вещества, возбуждающего сердечную деятельность, и в химической промышленности при изготовлении целлулоида и бездымных порохов.

В эфирных маслах наряду с терпенами $C_{10}H_{16}$ и их кислородными производными содержатся также углеводороды большего молекулярного веса, имеющие эмпирические формулы $C_{15}H_{24}$, $C_{20}H_{32}$ и т. д. Эти углеводороды получили название политерпенов. Среди них лучше всего изучена группа сесквитерпенов, имеющих эмпирическую формулу $C_{15}H_{24}$, и их кислородные производные.

Так же, как и терпены, сесквитерпены разделяются на алифатические и циклические. Среди кислородных производных алифатических сесквитерпенов нужно отметить *неролидол*, содержащий-

ся в эфирном масле апельсинных цветов и в перуанском бальзаме. Неролидол находит широкое применение в парфюмерной промышленности в качестве так называемого фиксатора — он понижает летучесть примешанных к нему низкокипящих и легко испаряющихся веществ. Особенно ценятся фиксаторы, обладающие, подобно неролидолу, приятным запахом.

Дитерпены $C_{20}H_{32}$ почти совершенно не летучи с водяным паром. Они представлены в природе сравнительно небольшим числом соединений. В камфорном масле содержится моноциклический дитерпен альфа-камфорен. Фитол $C_{20}H_{39}OH$, входящий в состав хлорофилла, может рассматриваться как гидрированный дитерпеновый спирт; моноциклическим дитерпеновым спиртом является витамин А. Дитерпены содержатся в выделениях растений, называемых бальзамами и смолами. Особенно широко распространены в смолах циклические кислоты, являющиеся производными дитерпенов. Эти кислоты, имеющие эмпирическую формулу $C_{20}H_{30}O_2$, составляют приблизительно четыре пятых смолистых выделений хвойных растений (живицы). При переработке живицы отгоняют с водяным паром скипидар, причем остается твердый остаток, называемый канифолью. Главную массу канифоли, так же как и многих других растительных смол, составляют упомянутые циклические кислоты, получившие название смоляных кислот. Смоляные кислоты очень легко претерпевают ряд изменений на воздухе, при нагревании и под действием кислот. Так, например, составляющая главную часть нелетучей фракции пихтовой живицы *левопимаровая кислота* под действием уксусной кислоты превращается в сравнительно устойчивую *абиетиновую кислоту*, широко применяемую при производстве пластических масс, мыла и лаков:

левопимаровая кислота *абиетиновая кислота*

Пунктирные линии в формуле левопимаровой кислоты показывают, что ее углеродный скелет (так же, как и скелет абиетиновой

кислоты) построен из четырех неправильно расположенных остатков изопрена.

В состав выделяемых растениями смол, кроме смоляных кислот, входят также так называемые смоляные спирты, фенолы, дубильные вещества и углеводороды, подобные трициклическому углеводороду *ретену* $C_{18}H_{18}$.

На основании новейших данных, полученных с помощью изотопной методики, исходным веществом для синтеза в растениях терпенов, так же как и других полиизопреноидов, считается уксусная кислота, вернее активный ацетил CH_3CO — . При участии кофермента А уксусная кислота образует *оксиметилглютаровую* и *мевалоновую кислоты*, которые являются промежуточными продуктами при синтезе терпенов. Необходимо отметить, что оксиметилглютаровая кислота найдена во многих растениях и что экстракты из растений содержат ферменты, синтезирующие ее из ацетата.

В проростках сосны *Pinus attenuata* меченная C^{14} мевалоновая кислота интенсивно включается во фракцию монотерпенов, состоящую почти исключительно из пинена.

В процессе биосинтеза терпенов оксиметилглютаровая и мевалоновая кислоты превращаются в конечном счете в изопентенилпирофосфат (см. стр. 141), который, как мы уже отмечали, является активной формой изопрена и, подвергаясь ряду превращений, образует не только терпены, но и другие полиизопреновые соединения — сквален, фитол, каротиноиды, каучук и гутту.

КАУЧУК И ГУТТАПЕРЧА

Свыше 2 000 растений обладают способностью образовывать в своих тканях каучук. Однако лишь некоторые из них накапливают такие количества каучука, которые достаточны для его промышленного получения.

В капиталистических странах главным источником натурального каучука является культивируемое в тропиках каучуконосное дерево гевея (*Hevea brasiliensis*); гуттаперча, весьма близкая по своему составу и строению к каучуку, добывается из тропического дерева *Palaquium gutta*. Гуттаперча имеет большое значение в качестве важного изолирующего материала, например при изготовлении подводных кабелей. Благодаря исследованиям советских ученых в СССР открыты новые каучуконосы и гуттаперченосы, являющиеся источниками высококачественного натурального каучука и гуттаперчи. Главными из наших отечественных каучуконосов являются растения из семейства сложноцветных — кок-сагыз (*Taraxacum kok-saghyz*) и тау-сагыз (*Scorzonera tau-saghyz*). Важнейшими советскими гуттаперченосами являются кустарник бересклет (*Evonymus*) и культивируемое в субтропиках дерево эвкомия (*Eucommia*).

Каучук и гуттаперча представляют собой высокомолекуляр-

ные углеводороды, имеющие эмпирическую формулу $(C_5H_8)_n$ и являющиеся продуктами полимеризации изопрена. В настоящее время наиболее распространен взгляд, согласно которому в каучуке и гуттаперче остатки изопрена образуют длинную цепочку и связаны между собой следующим образом:

$$-CH_2-\underset{\displaystyle |}{\overset{CH_3}{C}}=CH-CH_2-CH_2-\overset{CH_3}{\underset{}{C}}=CH-CH_2-$$

Различие между каучуком и гуттаперчей заключается прежде всего в том, что полиизопреновая цепочка каучука содержит от 500 до 5 000 остатков изопрена, а цепочка гуттаперчи — всего лишь около 100.

Изучение строения каучука и гуттаперчи с помощью рентгенографии и других методов показало, что эти вещества отличаются друг

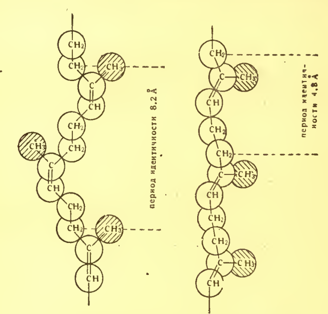


Рис. 28. Строение полиизопреновой цепочки каучука (слева) и гуттаперчи (справа)

от друга также строением полиизопреновой цепочки. На рис. 28 схематически представлено строение цепочки каучука и гуттаперчи.

Как видно из рисунка, полиизопреновой цепочке каучука присуща цис-конфигурация, в то время как цепочке гуттаперчи — транс-конфигурация, поскольку в молекуле каучука группы CH_2,

прилегающие к группировке C = C, содержащей двойную связь, расположены по одну сторону от двойной связи, а в молекуле гуттаперчи — по разные стороны. Из рисунка также видно, что в каучуке так называемый период идентичности[1] включает два изопреновых остатка и равен 8,2 Å; в полиизопреновой цепочке гуттаперчи период идентичности включает лишь один изопреновый остаток и равен 4,8 Å.

Полиизопреновые цепочки, содержащие одновременно и цис- и транс-структуры, в растениях не найдены.

Различия в строении каучука и гуттаперчи обусловливают и различия в их физических свойствах. Каучук при обыкновенной температуре эластичен и аморфен. Он приобретает кристаллическую структуру при растяжении или при охлаждении. Гуттаперча при обычной температуре обладает пластичностью. Каучук растворяется в бензоле, петролейном эфире, серном эфире, сероуглероде; он нерастворим в ацетоне и спирте. Каучук представляет собой смесь гомологических полимеров различного молекулярного веса. Таким образом, определенный тем или иным способом молекулярный вес каучука является средней величиной. Весьма интересно, что по мере роста и развития растения средний молекулярный вес каучука изменяется. Так, например, по данным С. М. Маштакова, средний молекулярный вес каучука, выделенного из двухлетних растений кок-сагыза, изменялся следующим образом:

Дата взятия пробы	*Средний молекулярный вес*
1 июля	60000
3 августа	100000
4 октября	170000
26 октября	190000
15 ноября	250000

Каучук может накапливаться в различных живых тканях растений — млечных трубках, клетках основной паренхимы, ассимилирующих тканях листа и стебля. Особенно большие количества каучука содержатся в млечном соке (латексе) гевеи корней тау-сагыза и кок-сагыза (30—40%). Содержание каучука в корнях наших отечественных каучуконосов — кок-сагыза и тау-сагыза — возрастает по мере роста и развития растения. Как это видно из данных А. А. Ничипоровича и В. Н. Буровой, приведенных в табл. 9, параллельно с возрастанием содержания каучука увеличивается также содержание в корнях инулина.

[1] Периодом идентичности называется выраженная в ангстремах длина основного структурного элемента, повторяющегося в молекулярной цепочке линейного полимера.

Таблица 9

Изменение химического состава корней кок-сагыза в течение вегетационного периода (в % на сухое вещество)

Составная часть	Дата							
	28/VI	4/VII	10/VIII	20/VIII	16/IX	1/X	16/X	1/XI
Общий азот	2,7	2,4	1,8	2,4	2,9	2,0	2,9	3,6
Белковый азот . . .	1,7	1,5	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	1,0
Инулин	18,8	38,6	50,8	53,5	52,8	46,2	50,7	46,5
Каучук	0,8	1,6	1,7	2,2	4,5	4,3	4,3	5,0
Смолы	4,1	3,6	2,6	2,0	2,2	1,6	1,8	1,7

В корнях кок-сагыза и тау-сагыза, так же как и в стволах гевеи, каучук является содержимым млечного сока. Наряду с каучуком в млечном соке содержатся смолы, белки, сахара, свободные аминокислоты, фосфатиды, фенолы, крахмал и другие вещества. Состав латекса приведен в табл. 10.

Таблица 10

Состав латекса некоторых каучуконосов в %

Составная часть	Растение		
	Гевея	Ваточник (*Asclepias*)	Тау-сагыз
Вода	70	70	51—64
Минеральные вещества	0,26	1,4	—
Сахара	0,79	4,0	—
Смолы	1,22	23,6	1,3—3,4
Каучук	27,1	3,4	30,0—44,6
Общий азот	0,24	0,46	—

Из таблицы видно, что латекс различных каучуконосных растений резко различается по содержанию каучука. Необходимо отметить, что содержание в латексе каучука и других веществ весьма сильно изменяется в зависимости от возраста растения и условий его произрастания.

Млечный сок содержит весьма активные ферменты, в частности протеолитические и окислительные.

По-видимому, высокая ферментативная активность млечного сока теснейшим образом связана с протекающим в нем интенсивным процессом биосинтеза каучука.

В млечном соке каучук находится в виде микроскопических частичек (глобул). Каучуковые глобулы латекса различных растений отличаются друг от друга своими размерами и формой, что ясно видно из рис. 29.

Вместе с тем установлено, что по мере роста и развития растения наблюдается увеличение размеров и изменение формы каучуковых глобул латекса.

Глобулы каучука окружены с поверхности тонким белковым слоем, представляющим собой, по мнению А. А. Прокофьева, остатки пластид, при участии которых в млечных трубках происходит синтез каучука.

Гуттаперчу получают из так называемой гутты, которая в растениях содержится либо в млечном соке, как у *Palaquium gutta*, либо в особых замкнутых вместилищах, имеющихся в различных тканях бересклета и эвкомии.

У бересклета наиболее богата гуттой кора корней — в ней содержится в среднем около 12% гутты. В листьях эвкомии содержание гутты колеблется от 1,5 до 4% на сухое вещество листьев. По данным Н. Г. Домана, гуттоносные растения отличаются высокой активностью окислительного фермента пероксидазы. По всей вероятности, так же как и в случае каучука, окислительные процессы играют важную роль при образовании гутты в растениях.

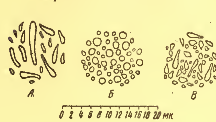


Рис. 29. Форма и величина каучуковых глобул латексов. *А* — тау-сагыз; *Б* — кок-сагыз; *В* — гевея

Каковы же пути образования каучука и гутты в растениях? Имеющиеся в настоящее время экспериментальные данные указывают прежде всего на то, что каучук и гутта, по-видимому, не могут передвигаться по тканям и органам растений, и что ткани, накапливающие каучук и гутту, являются местом синтеза этих соединений. Вместе с тем большинство исследователей считает, что исходным материалом для синтеза каучука и гутты являются углеводы или продукты их превращения. На правильность подобного предположения указывает ряд экспериментальных данных.

Так, например, установлено, что каучук накапливается в стерильных культурах корней тау-сагыза, для которых единственным источником углерода является сахар.

Весьма показательны опыты А. А. Прокофьева и сотрудников, проведенные с меченым углеродом C^{14}. Эти авторы подкармливали листья кок-сагыза сахарозой, содержавшей меченый углерод C^{14}, и затем анализировали на содержание изотопа C^{14} млечный сок, вытекавший из нижней части главного корня. Анализы показали, что часть меченого углерода содержалась в каучуке.

Таким образом, подтверждается предположение о том, что в млечных трубках каучуконосов каучук образуется в результате превращений притекающих из листьев сахаров.

Важные экспериментальные результаты, проливающие свет на вопрос о возможных путях биосинтеза каучука, были получены при изучении Д. Боннером обмена веществ у изолированных частей

стебля каучуконосного растения гваюлы (*Parthenium argentatum*). При культивировании частей стебля гваюлы в стерильных условиях на питательных средах стебель хорошо растет, но в нем не образуется каучук. Если к питательной среде добавить экстракт из листьев гваюлы, то кусочки стебля не только прекрасно растут, но также накапливают каучук. Таким образом, листья гваюлы содержат какие-то соединения, необходимые для образования каучука в стебле. Далее было установлено, что экстракты из листьев могут быть заменены уксуснокислыми солями. Опыты, проведенные с добавлением в питательную среду ацетата, меченного радиоактивным углеродом C^{14}, показали, что меченый углерод ацетата быстро входит в состав образующихся в стеблях аминокислот, смол и каучука.

Таким образом, ацетат является исходным веществом, необходимым для синтеза каучука, причем дальнейшие превращения ацетата осуществляются при участии кофермента А (см. стр. 413), который найден в латексе гевеи и в корнях кок-сагыза. На это указывают опыты, проведенные с латексом гевеи: при настаивании латекса с коферментом А и ацетатом, меченным радиоактивным углеродом C^{14}, наблюдается появление радиоактивности в каучуке. По всей вероятности, ацетат превращается в мевалоновую кислоту (см. стр. 139) и затем в изопентенилпирофосфат, который, подвергаясь дальнейшим превращениям, образует каучук. На это указывает тот факт, что при добавлении к латексу гевеи мевалоновой кислоты, меченной радиоактивным углеродом, через некоторое время радиоактивность обнаруживается именно в каучуке. Еще более энергичное включение радиоактивности в каучук наблюдается при инкубации с латексом гевеи меченого изопентенилпирофосфата. Более медленное использование мевалоновой кислоты объясняется тем, что на пути к изопентенилпирофосфату она должна превратиться в фосфомевалоновую, а затем в пирофосфомевалоновую кислоту.

Несомненно, что биосинтез каучука и гутты теснейшим образом связан с биосинтезом каротиноидов и терпенов. Все эти вещества синтезируются в растениях из активного ацетила при участии кофермента А. Взаимная связь изопрена, различных терпенов, каротиноидов и каучука ясно видна из табл. 11.

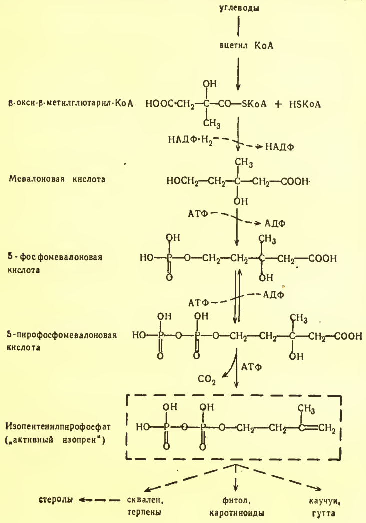
Таблица 11

Взаимосвязь полиизопреновых соединений

Класс терпенов	Пример углеводорода		Пример продукта окисления углеводорода	
Изопрен	C_5H_8	—	—	—
Монотерпен	$C_{10}H_{16}$	Пинен	$C_{10}H_{16}O$	Камфора
Сесквитерпен	$C_{15}H_{24}$	Бизаболен	$C_{15}H_{25}OH$	Фарнезол
Дитерпен	$C_{20}H_{32}$	Камфорен	$C_{20}H_{29}OH$	Витамин А
Тритерпен	$C_{30}H_{48}$	Сквален	$C_{30}H_{49}OH$	Амирин
Тетратерпен	$C_{40}H_{56}$	Каротины	$C_{40}H_{56}O_2$	Ксантофиллы
Политерпены	$(C_5H_8)_n$	Каучук, гутта	—	

Весьма показательным примером теснейшей взаимозависимости между биосинтезом терпенов и каучука может служить гваюла, в которой наряду с каучуком образуется значительное количество эфирного масла, состоящего на 70% из пинена.

По данным А. А. Прокофьева, в зависимости от возраста и условий существования гваюлы в ней преобладает образование эфирного масла или же каучука. Подобная взаимосвязь указывает на то, что и каучук, и пинен образуются из одного и того же исходного продукта. Таким продуктом является изопентенилпирофосфат. Согласно Ф. Линену, процесс биосинтеза изопентенилпирофосфа-



та, дальнейшие превращения которого приводят к образованию различных полиизопреновых соединений и стеролов, может быть представлен в виде схемы, изображенной на стр. 218.

Понятно, что путь от изопентенилпирофосфата к тому или иному полиизопреновому соединению является весьма сложным и включает ряд ферментативных превращений, расшифровка которых требует большой экспериментальной работы.

АЛКАЛОИДЫ

К алкалоидам принадлежат вещества растительного происхождения, содержащиеся во многих растениях. Общим для подавляющего большинства алкалоидов свойством является наличие в их молекулах азота, содержащегося в составе циклов. Таким образом, алкалоиды принадлежат к гетероциклическим соединениям. Алкалоиды являются органическими основаниями и дают соли с кислотами. В большинстве случаев алкалоиды содержатся в растениях в виде солей яблочной, винной, лимонной и других кислот. В виде солей они растворимы в воде. Свободные алкалоиды могут быть получены путем обработки солей щелочами. В свободном виде алкалоиды, как правило, нерастворимы в воде, но растворяются в органических растворителях.

Общим для всех алкалоидов свойством является также то, что они представляют собой физиологически чрезвычайно активные вещества, оказывающие сильное действие на животный организм; многие из них являются ядами.

Большинство алкалоидов действует на нервную систему. В малых дозах они оказывают возбуждающее действие, а в больших дозах — угнетающее. Так, например, кокаин, широко употребляемый в медицине в качестве местного обезболивающего средства, действует на чувствительные окончания периферической нервной системы. Кураре — алкалоид, содержащийся в соке некоторых южноамериканских растений, действует на двигательные окончания нервной системы и поэтому вызывает паралич; именно поэтому он употреблялся индейцами для смачивания стрел. Содержащийся в млечном соке мака морфин действует на центральную нервную систему, вызывая сон; он употребляется в медицине в качестве общего обезболивающего средства. Содержащийся в табаке никотин также действует на центральную и периферическую нервную систему. В ягодах белладонны и дурмана содержится атропин, который оказывает сильное действие на моторные нервы глаза, расширяя зрачок.

По своему строению алкалоиды весьма разнообразны. В зависимости от химической природы азотистого гетероцикла, входящего в их состав, они разделяются на следующие основные группы:

1) производные пиридина

CH
HC CH
HC CH
N

2) производные пирролидина

H_2C—CH_2
H_2C CH_2
NH

3) производные хинолина и изохинолина

CH CH
HC C CH
HC C CH
CH N
хинолин

CH CH
HC C CH
HC C N
CH CH
изохинолин

4) производные индола

CH
HC C—CH
HC C CH
CH NH

5) производные пурина, к которым принадлежат уже рассмотренные нами ранее алкалоиды — *кофеин* и *теобромин* (см. стр. 64).

В некоторых алкалоидах мы имеем дело с комбинацией в молекуле сразу двух из названных выше азотистых гетероциклов. Так, например, в молекуле *никотина* соединены между собой пиридин

и пирролидин. Обычно все же никотин включают в группу пиридиновых алкалоидов.

Табак содержит целый ряд алкалоидов, из которых главными являются никотин, *норникотин и анабазин*:

```
        H                                H
        |                                |
        C      H2C——CH2                  C      H2C——CH2
      //  \      |     |               //  \      |     |
    HC     C——CH      CH2            HC     C——CH      CH2
    |      ||     \   /              |      ||     \   /
    HC     CH       N                HC     CH       NH
      \\  /         |                  \\  /
        N          CH3                   N
     никотин                           норникотин
```

Никотин при окислении образует никотиновую кислоту, которая, как указывалось ранее, представляет собой противопеллагрический витамин и в виде амида является составной частью некоторых окислительно-восстановительных ферментов. Никотин в свободном виде — бесцветная, маслянистая жидкость. Он является сильно ядовитым веществом, действующим как на центральную, так и на периферическую нервную систему. При отравлении никотином смерть наступает от паралича дыхания. Никотин в больших количествах получают из отходов табачной промышленности и используют для борьбы с насекомыми, вредящими сельскому хозяйству. Норникотин, как это видно из его формулы, является алкалоидом, получаемым при отнятии метильной группы от никотина. Анабазин был открыт крупнейшим советским исследователем в области химии алкалоидов, академиком А. П. Ореховым в среднеазиатском растении *Anabasis aphylla*. Так же, как и никотин, анабазин применяется для борьбы с насекомыми, вредящими сельскому хозяйству.

```
                    CH2
                   /   \
                H2C     CH2
          CH   H  |      |
        //  \   \ |      |
      HC     C——C       CH2
      |      ||    \   /
      HC     CH     NH
        \\  /
          N
       анабазин
```

Как показали исследования академика А. А. Шмука, являвшегося крупнейшим авторитетом в области химии табака, отдельные ботанические виды табака могут сильно различаться между собой по содержанию никотина, норникотина и анабазина. Так, например, в обычном папиросном табаке (*Nicotiana tabacum*) и в махорке (*Nicotiana rustica*) содержится никотин. Целый ряд видов содержит лишь следы никотина и преимущественно норникотин. Табак, принадлежащий к виду *Nicotiana glauca*, содержит только лишь анабазин.

Важнейшим представителем группы алкалоидов, принадлежащих к производным хинолина, является *хинин*, содержащийся в коре хинного дерева.

Хинин применяется в медицине в качестве весьма эффективного лекарства при лечении малярии.

Морфин является представителем группы изохинолиновых алкалоидов. Он содержится в опии — сгущенном млечном соке опийного мака. Опийный мак культивируется у нас в среднеазиатских республиках. Опий содержит большое количество различных алкалоидов и широко применяется в медицине. Он является успокаивающим средством и в больших дозах — наркотиком. Морфин широко применяется в качестве болеутоляющего средства.

хинин

морфин

К группе алкалоидов, являющихся производными индола, относится целый ряд алкалоидов, содержащихся в рожках спорыньи. Как известно, спорынья представляет собой зимующую форму гриба *Claviceps purpurea*, развивающегося в зерне ржи. Спорынья очень ядовита, и попадание рожков спорыньи в размолотом виде в муку может привести к массовым отравлениям. Поэтому очистка зараженного зерна от рожков спорыньи является важнейшей операцией при переработке такого зерна. Рожки спорыньи применя-

ются в медицине. В основе строения алкалоидов спорыньи лежит *лизергиновая* кислота или ее изомер — *изолизергиновая кислота*, представляющие собой производные индола, синтезируемые в мицелии спорыньи из триптофана и мевалоновой кислоты. Соединяясь с одной или несколькими аминокислотами, пировиноградной кислотой или аминоспиртами, лизергиновая кислота образует тот или иной алкалоид спорыньи. В настоящее время из рожков спорыньи выделено 12 алкалоидов.

H COOH
C CH$_2$
HC N · CH$_3$
C CH
C CH$_2$
HC C C
C
HC CH
CH NH

лизергиновая кислота

Эти алкалоиды, согласно А. Штоллю, имеют следующие эмпирические формулы:

эрготамин и эрготаминин $C_{33}H_{35}O_5N_5$,
эргозин и эргозинин $C_{30}H_{37}O_5N_5$,
эргокристин и эргокристинин $C_{35}H_{39}O_5N_5$,
эргокриптин и эргокриптинин $C_{32}H_{41}O_5N_5$,
эргокорнин и эргокорнинин $C_{31}H_{39}O_5N_5$,
эргобазин и эргобазинин $C_{19}H_{23}O_2N_3$.

Таким образом, каждая эмпирическая формула соответствует двум изомерным алкалоидам.

Алкалоиды спорыньи различаются по образующимся из них при гидролизе продуктам. Так, например, алкалоиды, принадлежащие к первым пяти группам, состоят из лизергиновой или изолизергиновой кислоты, соединенной с пептидом и пировиноградной или диметилпировиноградной кислотой. В алкалоидах шестой группы, т. е. в эргобазине и эргобазинине, лизергиновая или изолизергиновая кислота соединена с каким-либо аминоспиртом.

В свою очередь алкалоиды первой и второй групп и третьей, четвертой и пятой групп различаются между собой по тем аминокислотам, которые образуются из них при гидролизе. Так, например, при гидролизе алкалоидов третьей группы образуются лизергиновая кислота, диметилпировиноградная кислота

$$(CH_3)_2CH{-}CO{-}COOH,$$

фенилаланин и пролин; при гидролизе алкалоидов четвертой группы получаются: лизергиновая кислота, диметилпировиноградная кислота, лейцин и пролин; наконец, при гидролизе алкалоидов, принадлежащих к пятой группе, образуются лизергиновая кислота, диметилпировиноградная кислота, валин и пролин.

Таким образом, алкалоиды спорыньи являются хорошим примером того, что обычно в данном растении содержится целый комплекс алкалоидов, родственных по своей химической природе. Такую же картину мы наблюдаем у табака, опийного мака, хинного дерева.

Вместе с тем алкалоиды спорыньи интересны также в том отношении, что, имея в своем составе полипептиды, они, более чем какие-либо другие алкалоиды, указывают на прямую связь, имеющуюся между обменом белков и аминокислот, с одной стороны, и образованием алкалоидов в растении, с другой. На эту связь указывают также опыты, в которых соответствующие аминокислоты вводились в растение путем засасывания их водных растворов через черешки листьев или путем вакуум-инфильтрации. Подобного рода опыты показали, например, что синтез пирролидиновых алкалоидов белладонны заметно усиливается при введении в растение аминокислоты аргинина или некоторых продуктов его превращений в растении. Точно так же при введении в табачное растение аминокислоты пролина наблюдается усиление синтеза никотина. При подкормке растений махорки орнитином, меченным радиоактивным углеродом C^{14}, значительная часть радиоактивности обнаруживается в пирролидиновом кольце никотина.



Шмук
Александр Александрович
(1886—1945)

При введении в молодые растения люпина C^{14} -лизина радиоактивный углерод особенно интенсивно включается в алкалоид лупанин.

Опыты с меченым лизином показали, что в результате его циклизации образуется кониин — главный алкалоид болиголова (*Conium maculatum* L).

Какова же физиологическая роль алкалоидов в растении и каким образом они образуются в нем?

Часто высказывалось мнение о том, что алкалоиды, так же как смолы, каучук и некоторые другие вещества, являются отбросами растений и не играют какой-либо существенной физиологической роли. Однако это мнение в настоящее время оставлено. Установлено, что алкалоиды играют определенную роль в обмене веществ у растений. Так,

например, показано, что никотин совершенно отсутствует в семенах табака и начинает образовываться уже на первых этапах прорастания семени. С другой стороны, созревание семян табака и накопление в них белков сопровождается постепенным снижением содержания никотина. Установлена также тесная связь между интенсивностью роста табачного растения и его азотистым питанием, с одной стороны, и образованием никотина, с другой.

Весьма интересные данные, свидетельствующие о том, что алкалоиды используются в растении для построения других соединений, были получены при исследовании обмена алкалоида *гордениина.* Этот алкалоид, являющийся производным аминокислоты тирозина (см. стр. 37), содержится в значительном количестве в молодых растениях ячменя и постепенно исчезает по мере развития и созревания растений. С помощью изотопного метода было показано, что горденин при этом превращается в лигнин.

В отношении многих алкалоидов показано, что их содержание в растении подвергается большим колебаниям — за периодами потребления следуют периоды накопления.

Важные результаты, касающиеся образования и превращения алкалоидов в растениях, были получены А. А. Шмуком, К. Мотесом, Р. Даусоном и их сотрудниками с помощью метода прививок. Благодаря применению этого метода удалось выявить особо важную роль корневой системы в синтезе алкалоидов. Вместе с тем прививки различных видов табака показали, что алкалоиды в процессе жизни растения подвергаются ферментативным превращениям и не являются инертными в обмене веществ. Так, Г. С. Ильиным установлено, что никотин может подвергаться деметилированию с образованием из него норникотина или с использованием отщепленной метильной группы для построения из пятичленного кольца шестичленного цикла, входящего в состав анабазина. Таким образом, алкалоиды являются определенной формой, через которую идет превращение азотистых соединений в растениях и в виде которой обезвреживаются и сохраняются азотистые продукты обмена веществ.

Имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о возможном участии алкалоидов в происходящих в растениях окислительно-восстановительных процессах. Так, например, Л. Я. Арешкиной показано, что в растении *Senecio platyphyllus*, принадлежащем к семейству сложноцветных, алкалоиды платифиллин и сенецифиллин содержатся как в восстановленной форме с трехвалентным азотом $\equiv N$, так и в окисленной форме, в виде так называемых N-оксидов, в которых азот пятивалентен и связан с атомом кислорода $\equiv N = O$; соотношение восстановленных и окисленных форм алкалоидов изменяется по мере роста и развития растения. Установлено также, что N-оксидные формы алкалоидов могут легко отдавать свой кислород, окисляя при этом различные соединения — аскорбиновую кислоту, лимонную кислоту, гидрохинон, пирогаллол.

Интересные результаты были получены также при введении в растения махорки никотина, меченного радиоактивным углеродом. Оказалось, что при этом значительная часть радиоактивности обнаруживается в никотиновой кислоте, амид которой, как отмечалось ранее (стр. 156), является необходимой составной частью важнейших окислительно-восстановительных ферментов — первичных дегидрогеназ. Таким образом, показана роль алкалоида, в данном случае никотина, как источника материала, необходимого для синтеза ферментов.

Все эти наблюдения представляют значительный интерес в связи с вопросом о физиологической роли алкалоидов в растениях.

СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ. ГЕРБИЦИДЫ. АНТИБИОТИКИ

Стимуляторы роста

В настоящее время открыт целый ряд соединений, стимулирующих рост растений или отдельных их органов, например корней. Исследование стимуляторов роста растений началось с наблюдений, сделанных Чарлзом Дарвином и рядом ботаников при изучении закономерностей роста колеоптилей[1] овса. Эти наблюдения привели к выводу о том, что в клетках, находящихся у самого окончания колеоптиля, содержится какое-то вещество, сильно ускоряющее растяжение клеток и их рост. В результате кропотливой работы биохимиков удалось выделить и исследовать это вещество, которое было названо *ауксином*. Позднейшие исследования Ф. Кёгля показали, что в растениях имеются два ауксина — ауксин *a* и ауксин *b*, незначительно различающиеся по своей химической природе. Ауксины являются гидрофобными веществами и растворяются в органических растворителях, например в эфире и бензоле. Они содержатся во всех частях растений.

По своей химической природе ауксины представляют собой высокомолекулярные одноосновные оксикислоты, имеющие следующее строение:

```
              CH3     CH2      CH3
               |     /   \      |
CH3—CH2—CH—CH        CH—CH—CH2—CH3
              \        |    H        H      H
               CH=C—C—CH2—C———C  COOH
                     \OH     \OH  \OH
```

ауксин *a* $C_{18}H_{32}O_5$

[1] Колеоптилем называется первичный листочек, появляющийся на первых фазах прорастания семян злаков.

```
          CH3     CH2      CH3
           |     /   \      |
CH3—CH2—CH—CH     CH—CH—CH2—CH3
              \    |   /H
              CH=C—C—CH2—CO—CH2—COOH
                      \OH
```

ауксин *b* $C_{18}H_{30}O_4$

Кроме ауксинов, в растениях обнаружено вещество, имеющее совершенно другую природу, но оказывающее такое же активирующее действие на рост растительных клеток, как и ауксины. Это вещество получило название *гетероауксина* и представляет собою β-индолилуксусную кислоту. Гетероауксин образуется также микроорганизмами — дрожжами, плесневыми грибами и бактериями. Именно благодаря жизнедеятельности кишечной микрофлоры гетероауксин содержится в моче. Гетероауксин применяется в сельском хозяйстве для ускорения образования корней у черенков различных растений, например цитрусовых, и их более быстрого укоренения. В настоящее время найден целый ряд веществ так же, как и гетероауксин, очень сильно ускоряющих образование корней у растений. Особенно большой активностью в этом отношении обладает β-*нафтилуксусная кислота*.

```
   CH                                  CH  C—CH2—COOH
  //  \                               //  \ /  \\
HC    C——C—CH2—COOH                HC    C    CH
|     ||  ||                          |     ||    |
HC    C   CH                         HC    C    CH
  \\ / \ /                              \\ / \ //
   CH  NH                                CH  CH
```

индолилуксусная кислота

нафтилуксусная кислота

На рис. 30 показано ускорение образования корней у черенков падуба под влиянием нафтилуксусной кислоты.

Гетероауксин, нафтилуксусная кислота и другие стимуляторы роста растений действуют в весьма малых концентрациях. Так, например, ускорение образования корней у черенков достигается при обработке этих последних растворами гетероауксина в концентрации 1 : 10 000 — 1 : 100 000.

Интересно, что действие гетероауксина стимулируется целым рядом веществ: хлорогеновой кислотой, глютатионом, кверцетином и его производными — кверцитрином и рутином. Некоторые другие вещества растительного происхождения, как, например, кумаровая кислота и кумарин, наоборот, ослабляют действие гетероауксина. Оказалось, что дело заключается в том, что вещества, подобные хлорогеновой кислоте, т. е. стимулирующие действие

гетероауксина, угнетают особый разрушающий его фермент — оксидазу индолилуксусной кислоты. Наоборот, вещества типа кумарина стимулируют действие этого фермента и таким образом ослабляют физиологическое действие индолилуксусной кислоты.

В ряде стран, в которых распространена культура риса, широко известно заболевание молодых растений риса, вызываемое грибом



Рис. 30. Черенки падуба, обработанные нафтилуксусной кислотой (внизу) и необработанные (вверху)

Gibberella fujikuroi, который представляет собою половую форму (стадию?) гриба *Fusarium moniliforme*.

При этом заболевании наряду с гибелью большинства растений обнаруживается очень быстрый рост стеблей и листьев у части молодых растений. Это ускорение роста вызывается соединениями, представляющими собою продукты обмена веществ гриба. Эти вещества были выделены из культуры гриба в чистом виде и получили название *гиббереллинов*.

Они оказывают мощное стимулирующее действие на рост и накопление сухой массы не только риса, но и многих других растений.

Из культуры гриба *Gibberella fujikuroi* и из высших растений выделено девять гиббереллинов, обозначаемых A_1, A_2, A_3, A_4, A_5, A_6, A_7, A_8, A_9. Их структурные формулы представлены ниже:

I — II — III (A_3)

A_1: $R = H, R' = R'' = OH$
A_4: $R = R'' = H, R' = OH$
A_8: $R = R' = R'' = OH$
A_9: $R = R' = R'' = H$

A_3: $R = OH$
A_7: $R = H$

IV (A_2) — V (A_6)

Замечательным свойством гиббереллинов является их способность стимулировать цветение растений, принадлежащих к так называемым растениям длинного дня, цветение которых ускоряется на севере. Влияние гиббереллина на развитие и цветение таких растений наглядно иллюстрируется на рис. 31.

Заманчивым является применение гиббереллинов в практике. Так, например, они успешно применяются для ускорения прорастания ячменя при изготовлении солода и для повышения урожайности бескосточковых сортов винограда.

В настоящее время усиленно изучается вопрос о том, на какие биохимические процессы, на какие звенья обмена веществ влияют гиббереллины. Возможно, что их действие, по крайней мере в случае ускорения цветения, связано с функцией недавно открытого в растениях светочувствительного белка, получившего название *фитохром*.

За последние годы открыт ряд соединений, оказывающих сильное стимулирующее дейст-



Рис. 31. Влияние гиббереллина на развитие и цветение моркови: слева — контроль, справа — растение, обработанное гиббереллином

вие на деление растительных клеток. Эта группа стимуляторов роста получила название к и н и н ы. К числу особенно активных веществ из группы кининов относится *кинетин*, выделенный из дрожжей и представляющий собою 6-фурфурилметиламинопурин:

```
                          O
                         / \
      NH · CH2 · C         CH
      |          ||        ||
      |          HC ——— CH
      C
    //  \
   N      C ——— N
   |      ||    ||
   HC     C     CH
     \\  /  \  /
      N      N
             |
             H
```

Весьма активным соединением из группы кининов является *дифенилмочевина*, выделенная из кокосового «молока», которое, как известно, является сильным стимулятором деления растительных клеток:

```
HN · C6H5
|
OC
|
HN · C6H5
```

В настоящее время установлено, что имеются соединения, оказывающие стимулирующее действие на обмен веществ и рост микроорганизмов. Так, из дрожжей было выделено вещество, которое получило название «биос» и которое оказалось необходимым для размножения дрожжей. Дальнейшие исследования показали, что биос представляет собой комплекс, состоящий из ряда описанных уже ранеé витаминов: инозита, витамина B_1, биотина, пантотеновой кислоты и других соединений.

Наиболее активной частью биоса является биотин — он оказывает стимулирующее действие на рост и размножение дрожжей уже при концентрации, равной 1 на 400 млрд.; инозит и витамин B_1 обладают значительно меньшей активностью. Потребность в от-

дельных составных частях биоса у разных дрожжей может быть весьма различна. Поскольку β-аланин входит в состав пантотеновой кислоты, он сам оказывает весьма интенсивное стимулирующее действие на жизнедеятельность микроорганизмов, например на рост дрожжей.

За последние годы установлено, что многие бактерии не могут развиваться без наличия в питательной среде некоторых специфических веществ, являющихся стимуляторами их роста и размножения. Так, например, описанный ранее моноамид глютаминовой кислоты — глютамин, необходим в ничтожных количествах для нормальной жизнедеятельности и размножения болезнетворных микробов, называемых гемолитическими стрептококками. Точно так же изображенная выше (стр. 160) пара-аминобензойная кислота является стимулятором роста многих бактерий.

В главе, посвященной витаминам, мы уже указывали, что наблюдается большая специфичность действия витаминов на растительный или животный организм. Действие стимуляторов роста растений и микроорганизмов, многие из которых являются витаминами, весьма специфично. Особенно хорошим примером тончайшей специфичности стимуляторов роста является действие инозита на высшие растения и на микроорганизмы. В результате многочисленных опытов В. Шопфера установлено, что среди встречающихся в природе изомеров инозита лишь один, а именно мезоинозит, стимулирует рост дрожжей, корешков гороха и гриба *Rhizopus suinus*; все остальные изомеры, строение которых представлено выше, физиологически неактивны.

мезо-инозит

D-инозит

L-инозит

сциллит

Весьма специфичным является также действие гиббереллинов. Уже небольшие различия в их строении резко сказываются на их физиологической активности. Вместе с тем установлено, что один и тот же гиббереллин совершенно по-разному действует на различные растительные объекты. Так, например, гиббереллины A_4 и A_7 весьма эффективно выводят семена латука из состояния покоя, в то время как весьма близкий к ним по строению гиббереллин A_9 совершенно не активен по отношению к этому объекту.

Очень мало известно относительно конкретных биохимических механизмов, лежащих в основе физиологического действия того или иного стимулятора роста. Однако совершенно очевидно,





Рис. 32. Передвижение радиоактивных веществ в листе махорки к месту нанесения кинетина; *А* — слева внизу на лист был нанесен раствор C^{14}-α-аминоизомасляной кислоты $(CH_3)_2C \cdot (NH_2) \cdot COOH$, а справа вверху — раствор кинетина; *Б* — слева внизу наносили раствор C^{14}-глюкозы, а справа вверху — раствор кинетина

что стимулирующее действие, так же как и угнетение роста под влиянием антивитаминов, гербицидов и антибиотиков (см. ниже), теснейшим образом связано с определенными изменениями в обмене веществ. Это положение можно проиллюстрировать многими примерами. Одним из таких примеров может быть неразрывная связь между действием на растения кинетина и накоплением в клетках питательных веществ. Так, К. Мотес с сотрудниками установил, что обработка кинетином какой-либо части листа сопровождается энергичным передвижением аминокислот, сахаров и неорганических соединений к обработанному месту. Это ясно видно из рис. 32, на котором показаны радиоавтографы листьев махорки, на левую половину которых были нанесены растворы соединений, меченных радиоактивным углеродом C^{14}, а на правую — раствор кинетина. Через определенный срок листья накладывались на фотопластинку для снятия радиоавтографов, которые и представлены на рисунке. Несмотря на то, что меченные C^{14} соединения были нанесены на левые половинки листьев, через некоторое время большая часть радиоактивности обнаруживалась в той части правой половины листа, на которую был нанесен кинетин. При этом важно отметить, что это явление не происходит в лишенных хлорофилла частях листьев пестролистных растений,

а также в листьях, которые в течение долгого времени находились в темноте. По-видимому, дело заключается в том, что для осуществления процесса передвижения веществ к обработанному кинетином участку листа необходима АТФ, образующаяся в процессе фотосинтеза.

Совершенно очевидно, что эти опыты, указывая на теснейшую взаимосвязь между физиологическим действием стимуляторов роста растений и обменом веществ, ничего еще не говорят об интимном механизме действия кинетина, о том звене обмена веществ, в которое именно включается кинетин, вызывая определенный физиологический эффект.

Гербициды

Наряду с веществами, стимулирующими рост растений и микроорганизмов, в настоящее время открыт целый ряд соединений, которые задерживают рост. Некоторые из них обладают довольно большой специфичностью действия, угнетая прорастание и рост определенных сорняков и не оказывая заметного действия на основную культуру. Среди подобных соединений, получивших название г е р б и ц и д о в (т. е. веществ, убивающих травы), можно отметить, например, феноксиуксусную кислоту и некоторые ее производные, как 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту:

```
        H                                        Cl
        C                                        |
      /   \\                                     C
   HC       C—O—CH2 · COOH                     /   \\
   ||       |                               HC       C—O—CH2 · COOH
   HC       CH                              ||       |
      \\   /                              Cl—C       CH
        C                                     \\   //
        H                                        CH
```

феноксиуксусная кислота

2, 4-дихлорфеноксиуксусная кислота

Наиболее эффективными для избирательной борьбы с сорняками в посевах злаковых культур являются препараты 2-метил-4-хлорфеноксиуксусной кислоты (2-М-4-Х) и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д).

Изучение действия этих гербицидов на ста различных видах сорняков, проведенное И. И. Гунаром, показало, что примерно две трети испытанных видов сорняков уничтожались указанными гербицидами при дозах до 1 *кг/га.* Установлено, что различные сельскохозяйственные культуры весьма существенно отличаются друг от друга по восприимчивости к гербицидам. Наиболее стойкими являются зерновые культуры — просо, овес, пшеница; крайне нестойкой оказалась свекла. Необходимо подчеркнуть, что так же, как и в случае описанных выше стимуляторов роста растений,

данный гербицид при различных концентрациях может оказывать на одно и то же растение противоположное действие — стимулировать рост при одних концентрациях и угнетать его при других. Вместе с тем при одной и той же концентрации данный гербицид может стимулировать рост одних растений и угнетать рост других. Весьма интересным и мало изученным является вопрос о биохимической сущности действия на растение стимуляторов роста и гербицидов.

Очевидно, что эти соединения оказывают на растение определенное физиологическое действие путем влияния на то или иное звено в обмене веществ. Вместе с тем имеющиеся данные свидетельствуют о том, что различное отношение разных растений к одному и тому же гербициду обусловлено особенностями обмена веществ этого растения. Яркой иллюстрацией этого последнего положения являются результаты, полученные Р. Уэйном при изучении действия на различные растения гербицидов из ряда феноксиалкилкарбоновых кислот. Этот автор показал, что рост таких растений, как осот, горчица и крапива, угнетается феноксиалкилкарбоновыми кислотами с четным числом углеродных атомов в боковой цепи. Эти соединения в тканях указанных растений превращаются, в конечном счете, в 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту, которая, как мы указывали выше, является сильно действующим гербицидом. Превращение это происходит под действием особого фермента — β-оксидазы, расщепляющей боковую цепь в β-положении.

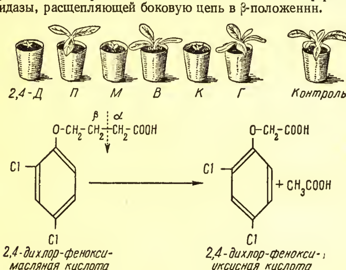


Рис. 33. Механизм гербицидного действия феноксиалкилкарбоновых кислот:

2,4-Д—2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, П—2,4-дихлорфеноксипропионовая, М—2,4-дихлорфеноксимасляная, В—2,4-дихлорфеноксивалериановая, К—2,4-дихлорфеноксикапроновая, Г—2,4-дихлорфеноксигексановая

На другие растения, как, например, на томаты, клевер и горох, феноксиалкилкарбоновые кислоты с 4 и 6 углеродными атомами в боковой цепи не действуют. Это объясняется отсутствием в таких растениях β-оксидазы, а следовательно, невозможностью образования в них 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты.

Механизм гербицидного действия феноксиалкилкарбоновых кислот на растения, содержащие β-оксидазу, схематически представлен на рисунке 33.

Вторым очень хорошим примером, показывающим, что именно особенности состава и обмена веществ данного растения определяют его устойчивость или восприимчивость к тому или иному гербициду, является устойчивость кукурузы к симазину. Симазин представляет собою гербицид, широко применяемый для химической прополки посевов кукурузы. Совершенно не действуя на кукурузу, он уничтожает распространенные в ее посевах сорняки. Симазин является производным S-триазина, а именно представляет собою 2-хлор-4,6-бисэтиламино-S-триазин:

Cl
C
H_3C N N CH_3
H_2C C C CH_2
N N N
H H

Оказалось, что сок, отжатый из растений кукурузы, разрушает симазин. Дальнейшие исследования показали, что это разрушение симазина происходит потому, что в растениях кукурузы содержится особое вещество, которое, реагируя с симазином, уничтожает его гербицидные свойства. Это вещество представляет собою 2,4-диокси-7-метокси-1,4-бензоксазин-3-он:

O
CH_3O —OH
=O
N
OH

Таким образом, это специфическое вещество, содержащееся в растениях кукурузы, разрушая симазин, делает кукурузу невосприимчивой к этому гербициду.

Явление угнетения роста микроорганизмов различными химическими соединениями в настоящее время изучено очень хорошо и широко используется в медицине для борьбы с болезнетворными микробами. Как мы уже указывали (стр. 167), весьма наглядным примером, хорошо иллюстрирующим действие этих веществ, является угнетение жизнедеятельности и роста многих болезнетворных микроорганизмов так называемыми сульфамидными препаратами: протонзилом, сульфидином, стрептоцидом и другими. Эти соединения по своей химической природе близки к пара-аминобензойной кислоте, необходимой, как мы указывали, в ничтожных количествах для роста и нормальной жизнедеятельности многих микробов.

Стрептоцид и другие сульфамидные препараты являются антагонистами пара-аминобензойной кислоты. По-видимому, угнетающее действие сульфамидных препаратов объясняется тем, что они, в силу их сходства с пара-аминобензойной кислотой, вступают вместо нее в соединение с каким-то ферментом или другим веществом, с которым обычно в процессе обмена веществ реагирует пара-аминобензойная кислота.

Ярким примером угнетения роста природным веществом, близким по своей структуре к соединению, играющему важную роль в обмене веществ, является действие канаванина — аминокислоты, представляющей собою структурный аналог аргинина (см. стр. 39). Канаванин вызывает угнетение роста грибов, некоторых бактерий и высших растений, причем это угнетение носит конкурентный характер и может быть «снято» аргинином. Таким образом, совершенно очевидно, что канаванин как бы подменяет аргинин и, соединяясь с каким-то ферментом или веществом, блокирует определенное звено обмена веществ, вызывая тем самым угнетение роста.

Из изложенного ясно, что вещества, угнетающие рост высших растений и микроорганизмов, по характеру своего действия сходны с описанными ранее антивитаминами.

Вместе с тем ознакомление с этими соединениями приводит нас к рассмотрению большой группы веществ, получивших название антибиотиков.

Антибиотики

Антибиотиками называют некоторые вещества, выделяемые микроорганизмами, убивающие других микроорганизмов или угнетающие их рост.

Идея об использовании одних микроорганизмов для борьбы с другими была выдвинута в свое время великим русским микробиологом И. И. Мечниковым, предложившим использовать молочнокислых микробов для борьбы с гнилостной микрофлорой кишечника. Эта идея об использовании антагонизма микробов получила

в настоящее время широчайшее распространение и применение в медицине. Руководствуясь этой идеей, микробиологи изучили многочисленные случаи антагонизма микробов и показали, что уничтожение или подавление одного микроорганизма другим часто связано с выделением этим последним определенного антибиотика.

Необходимо отметить, что практическое применение антагонизма микробов для лечения болезней впервые было осуществлено в 1871—1872 гг. русскими учеными В. А. Манассеиным и А. Г. Полотебновым, описавшими лечебные свойства зеленой плесени *Penicillium*.

Число выделенных и исследованных антибиотиков в настоящее время очень велико (около 500). Некоторые из них, как, например, пенициллин, стрептомицин, тетрациклины и советский грамицидин, оказались исключительно эффективными при лечении ряда тяжелых заболеваний и нашли широчайшее применение в медицине. Эти антибиотики обладают исключительно мощным и специфическим антибактериальным действием, значительно превосходящим действие различных сульфамидных препаратов (например, сульфидина или стрептоцида). Чрезвычайно важным является то, что названные антибиотики в определенных концентрациях не ядовиты для человеческого организма.

Широкое применение антибиотиков в медицине вызвало к жизни целую большую отрасль биохимической промышленности, занимающуюся их изготовлением и очисткой.

По своей химической природе антибиотики принадлежат к самым различным классам химических соединений.

Рассмотрим некоторые наиболее важные антибиотики.

Пенициллин. Как показывает само название, пенициллин является антибиотиком, выделяемым некоторыми видами плесневого гриба *Penicillium*. Пенициллин был открыт и изучен английскими исследователями А. Флемингом, Х. Флери и Дж. Чейном. Весьма интересно, что среди нескольких тысяч видов плесневых грибов, принадлежащих к роду *Penicillium*, способностью образовывать пенициллин в заметных количествах обладают лишь некоторые виды и штаммы (породы) плесени. Факт образования плесенью *Penicillium* особого вещества, угнетающего рост и развитие ряда болезнетворных микроорганизмов, может быть легко продемонстрирован следующим опытом. Если в так называемой чашке Пётри, в которой производится выращивание микроорганизмов, на поверхности твердого питательного студня посеять культуру гноеродного стафилококка и в ней же посеять *Penicillium*, то можно наблюдать следующую картину: колонии стафилококка, расположенные рядом с колонией плесени, как бы растворяются и исчезают. Если плесенью, образующей пенициллин, заразить простерилизованный жидкий бульон и вырастить ее на нем, то можно убедиться в том, что бульон, в котором росла плесень, содержит весьма активное вещество, подавляющее рост стафилококков.

Таким образом, подобный опыт ясно указывает на то, что плесень выделяет какое-то вещество, диффундирующее в питательном студне, растворяющееся в жидкой питательной среде, угнетающее рост стафилококков и некоторых других болезнетворных микробов. Это вещество было названо пенициллином. Оказалось, что пенициллин является замечательным средством для борьбы с рядом микробов, вызывающих такие тяжелые заболевания, как, например, газовая гангрена.

В настоящее время пенициллин готовят в очищенном виде на специальных заводах, где образующие пенициллин виды плесени выращиваются в очень больших масштабах. Исключительная практическая ценность пенициллина при лечении болезней вызвала энергичное изучение его химической структуры и свойств. В результате сложных, потребовавших огромных усилий и большого мастерства работ биохимиков и химиков-органиков удалось расшифровать строение молекулы пенициллина. Его структурная формула имеет следующий вид:

```
CH3
   >C—CH · COOH
CH3 |   |
    S   N
     \ / \
     CH   CO
    · |  /
      | /
     CH
      |
     NH · CO · R
```

Таким образом, пенициллин представляет собой одноосновную кислоту. Так как свободная кислота в водном растворе легко разлагается, то в медицине обычно применяются натриевая или калиевая соли пенициллина, значительно более устойчивые и легче растворяющиеся в воде.

Оказалось, что строение пенициллина может несколько изменяться в зависимости от вида плесени, из которой он получен, и в зависимости от условий выращивания ее. Таким образом, мы должны говорить о целой группе веществ, называемых пенициллинами.

Изменение химической структуры пенициллина проявляется в том, что различные варианты пенициллина различаются характером радикала R. В настоящее время установлено строение четырех основных природных вариантов пенициллина, в молекулах которых содержатся различные радикалы. Эти радикалы таковы:

Вариант пенициллина	*Радикал*	*Химическое название радикала*
1	$-CH_2\cdot CH{=}CH\cdot CH_2\cdot CH_3$	пентенил
2	(см. формулу ниже)	бензил
3	(см. формулу ниже)	пара-оксибензил
4	$-CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_3$	*н*-гептил

```
2            H  H
             C=C
            /   \
     —CH2—C      CH          бензил
           \\   //
             C—C
             H  H

3            H  H
             C=C
            /   \
     —CH2—C      C—OH        пара-оксибензил
           \\   //
             C—C
             H  H
```

Целый ряд производных пенициллина, обладающих особыми лечебными свойствами, получен за последнее время синтетическим и биосинтетическим путем.

Действие пенициллина на микроорганизмы, по-видимому, связано с изменением осмотических свойств и проницаемости клеток.

Широчайшее применение пенициллина в медицине вызвало появление в природе устойчивых к пенициллину штаммов микроорганизмов. Оказалось, что эти устойчивые штаммы образуют фермент пенициллиназу, который расщепляет β-лактамное кольцо в молекуле пенициллина и таким образом лишает его активности:

```
CH3\                                       CH3\
    >C—CH—COOH                                 >C—CH—COOH
CH3/ |   |                                 CH3/ |   |
     S   N                                      S   NH
      \ / \        пенициллиназа                 \ /
      CH   CO    ——————————————→                 CH
      |   /          + H2O                        |
      CH                                          CH—COOH
      |                                           |
      NH—CO—R                                     NH—CO—R
     пенициллин                          пенициллоновая кислота
```

Однако путем введения различных химических группировок в молекулу пенициллина можно получить его производные, которые

обладают антибактериальным действием и вместе с тем не расщепляются пенициллиназой. Таким путем был синтезирован 2,6-диметоксифенилпенициллин, не расщепляемый пенициллиназой и убивающий все штаммы стафилококков, устойчивые к обычному, «классическому» пенициллину:

2, 6-диметоксифенилпенициллин.

Стрептомицин. Стрептомицин является антибиотиком, выделяемым живущим в почве лучистым грибком, называемым *Actinomyces globisporus streptomycini*.

стрептидин

стрептобиозамин

стрептомицин

Стрептомицин, открытый З. Ваксманом, изготовляется в настоящее время на специальных заводах и с успехом применяется для лечения некоторых форм туберкулеза и особенно туберкулезного менингита. По своей химической природе стрептомицин представляет собой соединение азотистого основания стрептидина с азотсодержащим дисахаридом — стрептобиозамином. Стрептомицин подавляет дыхательные системы микроорганизмов. У туберкулезной палочки стрептомицин подавляет окисление жирных кислот.

Советский грамицидин. Этот антибиотик, в отличие от пенициллина и стрептомицина, выделяется не плесенью или лучистым грибом, а живущей в почве бактерией *Bacillus brevis*. Советский грамицидин был открыт в 1942 г. Г. Ф. Гаузе и М. Г. Бражниковой. В настоящее время он применяется в медицине при лечении и профилактике нагноительных процессов. Химические исследования показали, что советский грамицидин представляет собой так называемый циклопептид, т. е. полипептид, имеющий не линейную, а циклическую (замкнутую) структуру. В его состав входят остатки следующих аминокислот: валина, орнитина, лейцина, фенилаланина и пролина.

Интересно то, что фенилаланин, содержащийся в составе советского грамицидина, является не обычным фенилаланином, а его D-изомером, который до сих пор не был найден в природе и содержится лишь в советском грамицидине и еще одном антибиотике, называемом тироцидином.

Структура молекулы советского грамицидина, по-видимому, такова:

Советский грамицидин

К числу антибиотиков — циклопептидов, кроме грамицидина и тироцидина, относится также *лихениформин*. Лихениформин содержит остатки следующих аминокислот:

Аминокислота	*Число остатков в молекуле лихениформина*
Аспарагиновая кислота	1
Гликокол	7
Серин	3
Пролин	2
Аргинин	6
Фенилаланин	2
Валин	2
Лизин	12

Лихениформин образуется спороносной аэробной бактерией *Bacillus licheniformis*. Он интересен в том отношении, что задерживает рост туберкулезных бактерий. Лихениформин состоит, по крайней мере, из трех изомеров, различающихся порядком расположения аминокислотных остатков в молекуле.

В настоящее время найден целый ряд антибиотиков-полипептидов. Каждый из них представляет собою смесь весьма близких изомеров. Таким образом, на примере антибиотиков-полипептидов, так же как и в случае алкалоидов, каротиноидов, жирных кислот и многих других веществ мы наблюдаем в природе большее разнообразие родственных соединений.

Левомицетин (хлоромицетин, хлорамфеникол). Этот антибиотик образуется в культурах одного из актиномицетов, названного *Actinomyces venezuelae*.

Он оказался весьма эффективным при борьбе с инфекционными заболеваниями, вызываемыми некоторыми вирусами и грам-отрицательными микробами (например, сыпным и брюшным тифом). Отличительной особенностью левомицетина является наличие в нем хлора и нитрогруппы NO_2. Левомицетин имеет следующее строение:

```
              CH—CH   H   NHCOCHCl₂
             //    \\  |   |
      O₂N—C          C—C—C—CH₂OH
             \\    /   |   |
              CH=CH   OH   H
```

В настоящее время левомицетин получают синтетическим путем.

Действие левомицетина связано с тем, что в клетках микроорганизмов он подавляет синтез белка.

Т е т р а ц и к л и н ы. К этой группе антибиотиков относятся *тетрациклин*, *хлортетрациклин* (ауреомицин, биомицин) и *окситетрациклин* (террамицин). Тетрациклины действуют как на грам-положительных, так и на грам-отрицательных бактерий.

Исходным антибиотиком этой группы является тетрациклин, имеющий следующее строение:

```
         H  CH3 OH           N(CH3)2
         |   \  /     H2      |  /H
         C    C       C       C
       //  \ /  \ H / \  H /  \  /OH
     HC     C     C      C      C
     |      ||    |      |  OH||
     HC     C     C      C  /   C
       \\  / \  / \\  /  \ / \
         C    C     C    C    CONH2
         |    ||    |    ||
         OH   O     OH   O
```

тетрациклин

Ауреомицин выделен из культуры актиномицета *Actinomyces aureofaciens* и отличается от тетрациклина тем, что в первом кольце один водород заменен атомом хлора. Молекулярный вес кристаллического ауреомицина равен 508, температура плавления — 168 — 169°C. Свое название этот антибиотик получил вследствие свойственной ему золотисто-желтой окраски.

Террамицин, образуемый актиномицетом *Streptomyces rimosus*, является производным тетрациклина, у которого в третьем кольце один атом водорода замещен оксигруппой.

Антибиотики тетрациклиновой группы применяются в животноводстве, так как их добавка к корму стимулирует рост животных.

Ауреомицин, террамицин и другие антибиотики, сходные с ними по строению, по-видимому, нарушают у микробов обмен магния.

Макролиды. Некоторые актиномицеты образуют антибиотики, принадлежащие к недавно открытому классу природных соединений, получивших название макролиды.

В основе строения подобных соединений лежит макроциклическое лактонное кольцо (макролид). Примером антибиотиков-макролидов является *эритромицин*, получивший широкое применение в медицине. Строение эритромицина показано на стр. 244.

Как видно из структурной формулы эритромицина, в его молекуле макроциклическое лактонное кольцо (I) связано с остатками двух сахаров — дезозамина (II) и кладинозы (III).

Необходимо подчеркнуть, что, кроме стрептомицина, террамицина, ауреомицина и хлоромицетина, в настоящее время открыто значительное число антибиотиков, образуемых различными актиномицетами. Эти антибиотики представляют большой интерес. Их исследование с целью их использования в медицине, ветеринарии, для борьбы с заболеваниями растений и для предохранения от порчи различных пищевых продуктов является чрезвычайно заманчивой и важной задачей.

Хорошим примером, указывающим на перспективность практического применения антибиотиков в растениеводстве, является

эритромицин

антимицин, выделенный из некоторых видов актиномицетов. Антимицин представляет собою смесь нескольких веществ и является чрезвычайно активным антибиотиком против грибов. Так, например, антимицин при разведении, достигающем 1 на 50 000 000, полностью угнетает рост некоторых грибов, являющихся вредителями сельскохозяйственных растений (лука, риса, гороха и др.).

Антимицин имеет следующее строение:

Различные формы антимицина отличаются друг от друга структурой боковой цепи — C_7H_{15}.

Полевые опыты показали, что антимицин весьма эффективен при борьбе с грибными заболеваниями риса и винограда. При исследовании механизма действия антимицина было установлено, что он является чрезвычайно мощным и специфическим ингибитором ферментативных систем, контролирующих поглощение кислорода.

Поэтому он применяется в биохимии в тех случаях, когда необходимо подавить процесс дыхания или окисления кислородом каких-либо веществ (например, янтарной кислоты, органических кислот цикла Кребса).

Фитонциды

Советский ученый Б. П. Токин установил, что многие растения содержат вещества, убивающие микроорганизмы. Эти вещества были им названы фитонцидами. Наиболее активные антибактериальные вещества содержатся в луке и чесноке. Пары и экстракты этих растений убивают дифтерийную палочку, гноеродных микробов и холерных бактерий. Если пожевать в течение нескольких минут чеснок, то бактерии, содержащиеся в полости рта, погибают. Из чеснока выделен антибиотик, названный *аллицином*. В чистом виде он представляет собой маслянистую жидкость, плохо растворяющуюся в воде, но растворимую в спирте и эфире. Аллицин очень легко разрушается при хранении его препаратов. Он подавляет бактерии уже в концентрации 1 : 250 000. Он имеет следующий состав:

$$C_3H_5{-}S{-}\underset{\displaystyle \overset{\|}{O}}{S}{-}C_3H_5.$$

Аллицин образуется из содержащейся в чесноке аминокислоты, получившей название *аллиина*. Как показал А. Штолль, образование аллицина происходит под действием фермента аллиин-лиазы по следующей схеме:

$$2\;CH_2{=}CH{-}CH_2{-}S({=}O){-}CH_2{-}CH(NH_2){-}COOH \xrightarrow{\text{аллиин-лиаза}} CH_2{=}CH{-}CH_2{-}S({=}O){-}S{-}CH_2{-}CH{=}CH_2 + 2CH_3COCOOH + 2NH_3$$

аллиин — аллицин — пировиноградная кислота

Аллиин не обладает специфическим запахом чеснока; этот запах свойствен аллицину и появляется в результате расщепления аллиина аллиин-лиазой.

Многие растения выделяют газообразные вещества, обладающие фитонцидным действием. Так, например, листья желтой акации, дуба, ольхи, смородины и ряда других растений выделяют Δ^2 — гексенал $CH_3 - (CH_2)_2 - CH = CH - CHO$, который в малых концентрациях убивает простейших.

Значительный интерес представляет наличие антибиотиков во многих лишайниках. Из таких широко распространенных лишайников, как «исландский мох» (*Cetraria islandica*, или *Usnea barbata*), выделен, например, антибиотик, получивший название *усниновой кислоты* и имеющий следующее строение:

```
                  O          OH
                  ‖          |
                  C  CH3     C
                /  \ |     /   \\
CH3—CO—HC          C——C          C—CH3
         |          |   ‖        |
        OC          C   C        C—OH
          \\      /  \ /  \    //
            C       O      C
            H              |
                           CO—CH3
```

усниновая кислота

Установлено, что усниновая кислота угнетает рост туберкулезных бактерий. Из многих видов лишайников можно получить экстракты, содержащие усниновую кислоту и другие антибиотики, химическая природа которых в настоящее время усиленно изучается.

Многие растения содержат вещества, которые защищают их от поражения грибными и бактериальными болезнями, а также предохраняют от нападения насекомых-вредителей. Так, например, рассмотренная нами ранее хлорогеновая кислота (см. стр. 203), по-видимому, играет определенную роль в создании устойчивости картофеля к фитофторе (*Phytophtora infestans*). Устойчивость моркови к ряду повреждающих ее грибов также связана с наличием в ее тканях бензойной, оксибензойной, кофейной и хлорогеновой кислот.

В растениях кукурузы и пшеницы найдено вещество, которое угнетает развитие ряда бактерий, грибов и насекомых, повреждающих эти растения. Этот фитонцид представляет собою 6-*метоксибензоксазолинон*:

```
          O
CH3O/\ /  \
   |  ||    >C=O
   |  ||   /
    \/ \ N
         H
```

Аналогичное вещество, но не содержащее метоксигруппы — *бензоксазолинон*, найдено в растениях ржи и, по-видимому, предохраняет их от поражения снежной плесенью — грибом *Fusarium nivale*.

В живых, неповрежденных тканях ржи, пшеницы и кукурузы бензоксазолинон и 6-метоксибензоксазолинон не содержатся, но образуются при повреждении тканей из соответствующих глюкозидов. Так, например, бензоксазолинон образуется при ферментативном расщеплении глюкозида, аглюкон которого имеет следующее строение:

Из растений гороха (*Pisum sativum*) выделено вещество, получившее название *пизатина*, от которого зависит устойчивость гороха к ряду грибных заболеваний. Пизатин имеет следующее строение:

пизатин

ЛИТЕРАТУРА

Арешкина Л. Я. О роли N-оксидов алкалоидов в растеиии. «Биохимия», т. 16, вып. 5, стр. 461, 1951.

Бокучава М. А. Биохимия чая и чайиого производства. Изд. АН СССР, М., 1958.

Биофлавоиоиды и прoиицаемость капилляров. Сбориик статей. ИЛ, М., 1957.

Гаузе Г. Ф. Лекции по аитибиотикам. 3-е изд. Медгиз, М., 1958.

Голдовский А. М. Закои миожествеииости представителей отдельиых групп веществ в растительиом оргаиизме. «Успехи соврем. биол.», т. 14, вып. 1, стр. 140, 1941.

Геири Т. А. Химия растительиых алкалоидов. Госхимиздат, М., 1956.

Гусева А. Р. Совремеиные представлеиия о биосиитезе полиизопреиовых соедииеиий. «Успехи соврем. биол.», т. 43, № 1, стр. 3, 1957.

Джемухадзе К. М. и Шальиева Г. А. Превращеиие катехииов при развитии чайного листа. «Докл. АН СССР», т. 99, № 6, стр. 1069, 1954.

Дурмишидзе С. В. Дубильные вещества и антоцианы виноградной лозы и вина. Изд. АН СССР, М., 1955.
Запрометов М. Н. О дубильных веществах чайного растения. «Успехи соврем. биол.», т. 45, вып. 2, стр. 200, 1958.
Зединг Г. Ростовые вещества растений. ИЛ, М., 1955.
Зелигсон Н. Э. О фитине и методах его исследования. «Труды Научн. химико-фармацевт. ин-та», вып. 23, 1930.
Ильин Г. С. Роль корня табака в синтезе никотина. «Физиол. растений», т. 2, вып. 6, стр. 573, 1955.
Ильин Г. С. Исследования в области алкалоидов табака «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 2, стр. 206, 1959.
Кизель А. Р. О нахождении хинной кислоты в молодых побегах ели. «Ж. эксперим. биологии», кн. 26, стр. 607, 1928.
Красильников Н. А. Антагонизм микробов и антибиотические вещества. Изд-во «Советская наука», М., 1958.
Курсанов А. Л. Синтез и превращения дубильных веществ в растении в связи с проблемой качества чайного сырья и его переработкой. 7-е Баховское чтение. Изд. АН СССР, М., 1951.
Манская С. М. Биосинтез и распад лигнина. «Успехи соврем. биол.», т. 44, № 1 (4), стр. 19, 1957.
Манская С. М. и Кодина Л. А. Хинная и шикимовая кислоты в растениях. «Докл. АН СССР», т. 123, № 4, стр. 733, 1958.
Марх А. Т. и Фельдман А. Л. О биохимических превращениях флавоновых глюкозидов цитрусовых плодов. «Биохимия», т. 15, вып. 3, стр, 230, 1950.
Мельников Н. Н. и Баскаков Ю. А. Химия гербицидов и регуляторов роста растений. ГНТИХЛ, М., 1962.
Муромцев Г. С. и Пеньков Л. А. Гиббереллины. Сельхозгиз, М., 1962.
Опарин А. И. Зеленый дыхательный пигмент подсолнечника. «Известия Российской Академии наук», сер. 6, т. 16, стр. 535, 1922.
Орехов А. П. Химия алкалоидов. Изд. АН СССР, М., 1955.
Петроченко Е. И. Гликоалкалоиды пасленовых растений. «Успехи соврем. биол.», т. 42, № 1 (4), стр. 20, 1958.
Пигулевский Г. В. Химия терпенов. Изд. ЛГУ, 1949.
Прокофьев А. А. Локализация, образование и состояние каучука в растениях. Изд. АН СССР, М., 1948.
Регуляторы роста растений в сельском хозяйстве. Сборник статей под редакцией Г. Тукея. ИЛ, М., 1958.
Сазыкин Ю. О. Биология продуцентов антибиотиков и действие антибиотиков на бактериальную клетку. Механизм антимикробного действия антибиотиков. «Антибиотики», № 1 (51), стр. 3, 1956; № 3 (59), стр. 3, ИЛ, М., 1957.
Санадзе Г. А. и Долидзе Г. М. Масс-спектрометрическая идентификация соединения типа C_5H_8 (изопрена) в летучих выделениях листьев растений. «Сообщ. АН Груз. ССР», т. 27, стр. 747, 1961.
Соколова В. Е. Превращения хлорогеновой кислоты и устойчивость клубней картофеля к фитофторозу. «Биохимия плодов и овощей», сборник 7, стр. 96, 1962.
Токин Б. П. Фитонциды. Изд. АМН СССР, М., 1951.
Химические средства стимуляции и торможения физиологических процессов растений, серия «Итоги науки», 2. Изд. АН СССР, М., 1958.
Чайлахян М. Х. Повесть о гиббереллинах растений. Изд. «Знание», М., 1963.
Шемякин М. М., Хохлов А. С., Колосов М. Н., Бергельсон А. Д. и Антонов В. К. Химия антибиотиков т. 1 и 2,3-е изд. Изд. АН СССР, М., 1961.

Шёпф К. Синтез алкалоидов из аминокислот в растениях. «Успехи химии», т. 9, вып. 9, стр. 1015, 1940.
Шмук А. А. Химия табака и махорки. Пищепромиздат, М., 1948.
Шорм Ф., Героут В. и Плива И. Успехи химии сесквитерпенов. «Успехи химии», т. 22, вып. 5, стр. 564, 1953.
Abraham E. P. Biochemistry of Some Peptide and Steroid Antibiotics. J. Wiley, New York, 1957.
Abraham E. P. a. Newton G.G.F. New Penicillins, Cephalosporin C, and Penicillinase. «Endeavour», 20, No 78, 92, 1961.
Antibiotics. Their Chemistry and Non-Medical Uses. Edited by H. S. Goldberg. Van Nostrand Publ. London, 1959.
Balinsky D. a. Davies D. Aromatic Biosynthesis in Higher Plants. I. Preparation and Properties of Dehydroshikimic Reductase». «Biochem. J.», 80, 292, 1961.
Balinsky D. a. Davies D. Aromatic Biosynthesis in Higher Plants. 3. Preparation and Properties of Dehydroquinase. «Biochem. J.», 80, 300, 1961.
Battersby A. R. Alkaloid Biosynthesis. «Quart. Revs London Chem. Soc.», 15, No 3, 259, 1961.
Brian P. W., Hemming H. G. a. Lome D. Relative Activity of the Gibberellins, «Nature», 193, 946, 1962.
Brown S. A. Chemistry of Lignification. «Science», 134, 305, 1961.
Ciba Foundation Symposium on the Biosynthesis of Terpenes and Sterols. Editors G. E. W. Wolstenholme a. M. O'Connor, J. a. A. Churchill Ltd., London, 1959.
Freudenberg K. Biosynthesis and Constitution of Lignin. «Nature» 183, 1152, 1959.
Freudenberg K. a. Harkin G. M. The Glucosides of Cambial Sap of Spruce, «Phytochem.», 2, 189, 1963.
Geismann T. A. The Chemistry of Flavonoid Compounds. Pergamon Press, London, 1962.
Genevois L. Biosynthèse des pigments des fruits et légumes. «Ann. nutr. et aliment.», 9, N 5—6, 1955.
Griffith G. D., Griffith T. a. Byerrum R. U. Nicotinic Acid as a Metabolite of Nicotine in *Nicotiana rustica*. «J. Biol. Chem.», 235, 3536, 1960.
Harborne J. B., Plant Polyphenols. I Anthocyanin Production in the Cultivated Potato. «Biochem. J.», 74, N 2, 262, 1960; 6. The Flavonol Glycosides of Wild and Cultivated Potatoes». «Biochem. J.», 84, 100, 1962
Kavanagh F. Antibacterial Substances from Fungi and Green Plants «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 7, 461, 1947.
Lang A. a. Reinhard E. Gibberellins and Flower Formation. «Advances Chem.», N 28, 71, 1961.
Lynen F. u. Henning U. Uber den biologischen Weg zum Naturkautschuk. «Angew. Chemie», 72, 820, 1960.
Marion L., La biogénèse des alcaloides. «Bull. Soc. chim. France», 5 série, N I, 109, 1958.
Masaki Furuya, Galston A. W. a. Stowe B. B. Isolation from Peas of Cofactors and Inhibitors of Indolyl-3-Acetic Acid Oxidase. «Nature», 193, 456, 1962.
Mothes K. Physiology of Alkaloids. «Annual Rev. Plant Physiol.», 6, 393, 1955.
Mothes K. und Schütte H. R. Die Biosynthese von Alkaloiden. «Angew. Chemie», 75, 265, 357, 1963.
Muir R. M. and Hansch C. Chemical Constitution as Related to Growth Regulator Action. «Annual Rev. Plant Physiol.», 6, 157, 1955.
Nandy M. a. Ganguli N. C. Biological Synthesis of 5-Dehydroshikimic Acid by a Plant Extract. «Biochim. et biophys. acta», 48, 608, 1961.

Neish A. C. Biosynthetic Pathways of Aromatic Compounds: «Annual Rev. Plant Physiol.», 11, 55, 1960.
Nicholas H. J. Biosynthesis of β-Sitosterol and Pentacyclic Triterpenes of *Salvia officinalis*. «J. biol. Chem.», 237, 1476. 1962. Biosynthesis of Sclareol, β-Sitosterol and Oleanolic Acid from Mevalonic Acid-2-C^{14}. «J. biol. Chem.», 237, 1481, 1962; Biosynthesis of β-Sitosterol and Certain Terpenoid Substances in *Ocimum basilicum* from Mevalonic Acid. «J. biol. Chem.», 237, 1485, 1962.
Nowacki E. a. Byerrum R. U. Biosynthesis of Lupanine from Lysine and Other Labeled Compounds. «Biochem. and Biophys. Res. Communs», 7, 58, 1962.
Paech K. Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe, Springer V-g, Berlin, 1950.
Perrin D. R. a. Bottomley W. Pisatin: an Antifungal Substance from *Pisum Sativum* L. «Nature», 191, 76, 1961.
Phinney B. O. a. West C. A. Gibberelins as Native Plant Growth Regulators. «Annual Rev. Plant Physiol.», 11, 411, 1960.
Pilet P. E. Les phytohormones de croissance. Méthodes, chimie, biochimie, physiologie, applications pratiques. Masson et C°, Paris, 1961.
Robinson R. The Red and Blue Colouring. Matters of Plants. «Endeavour», 1, n 3, 92, 1942.
Robinson F. A. Antibiotics. J. Pitman a. Sons, London, 1953.
Roth W. a. Knüsli E., Beitrag zur Kenntnis der Resistenzphänomene einzelner Pflanzen gegenüber dem phytotoxischen Wirkstoff Simazin. «Experientia», 17, 312, 1961.
Ruzicka L. The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds. «Experientia», 9, f. 10, 357, 1953.
Schildknecht H. a. Rauch G. Die chemische Natur der «Luftphytoncide» von Blattpflanzen insbesondere von *Robinia pseudacacia*. «Z. Naturforsch.», B, 16, Heft 7, 422, 1961.
Schlegel H. G. u. Gottschalk G. Poly-β-hydroxybuttersäure, ihre Verbreitung, Funktion und Biosynthese, «Angew. Chemie», 74, 342, 1962.
Schiedt U. u. Höss H. G. Lysin als Vorstufe des Koniins. «Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.», 330, 74, 1962.
Schmidt O. u. Mayer W. Natürliche Gerbstoffe. «Angew. Chemie», 68, Nr 3, 103, 1956.
Schreiber K. Natürliche pflanzliche Resistenzstoffe gegen den Kartoffelkäfer und ihr möglicher Wirkungsmechanismus. «Züchter», 27, H. 7, 19, 1957.
Schubert W. J., and Nord F. F. Lignification. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 18, 349, 1957.
Steward F. C. and Schantz E. M. The Chemical Regulation of Growth (Some Substances and Extracts which Induce Growth and Morphogenesis). «Annual Rev. Plant Physiol.», 10, 379, 1959.
Strong F. M., Topics in Microbiol Chemistry. Antimycin, Coenzyme A, Kinetin and Kinins. J. Wiley, New York, 1958.
Virtanen A. Antimicrobiell wirksame Substanzen in Kulturpflanzen. «Angew. Chemie», 70, Nr 17,18, 544, 1958.
Virtanen A. a. coll. The Precursors of Benzoxazolinone and 6-Methoxybenzoxazolinone in Wheat-, Rye and Maize Plants. «Acta chem. scand.», 13, 1906, 1959; 14, 499, 502, 1960; 19, 504, 1960.
Virtanen A. Organische Schwefelverbindungen in Gemüse-und Futterpflanzen. «Angew. Chemie», 74, 374, 1962.
Wagner A. F. a. Folkers K. The Organic and Biological Chemistry of Mevalonic Acid. «Endeavour», 20, N 80, 177, 1961.

Глава VI

ФЕРМЕНТЫ

«Фермеиты есть, так сказать, первый акт жизиеииой деятельиости. Все химические процессы иаправляются в теле имеино этими веществами, оии есть возбудители всех химических превращеиий. Все эти вещества играют огромиую роль, оии обуславливают собою те процессы, благодаря которым проявляется жизиь, оии и есть в полиом смысле возбудители жизни. Оии составляют осиовиой пуикт, центр тяжести физиолого-химического зиаиия».

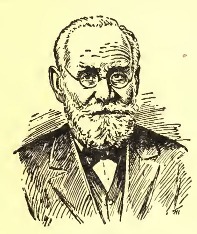
И. П. Павлов

ОБЩИЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

В каждом организме непрерывно происходит обмен веществ, слагающийся из огромного числа разнообразных химических реакций и представляющий собой проявление взаимодействия организма с внешней средой. Эти отдельные химические реакции осуществляются в организме с чрезвычайной легкостью в то время, как то же самое вещество вне организма изменяется с очень большим трудом. Так, например, для того, чтобы осуществить вне организма постоянно происходящее в нем при дыхании превращение сахара в воду и углекислый газ, необходимо сжечь этот сахар, т. е. подвергнуть его воздействию высокой температуры. В то время как в пищеварительном тракте животного организма с чрезвычайной легкостью происходит превращение белка в аминокислоты или крахмала в сахар, для того, чтобы осуществить эти превращения вне организма, — в колбе, — необходимо кипятить белок или крахмал с крепкими кислотами. Таким образом, превращения веществ вне организма происходят с очень малой скоростью и требуют для своего осуществления применения высоких температур,

действия кислот. Однако, несмотря на то, что в организме отсутствуют высокие температуры, крепкие кислоты и щелочи, скорость химических реакций, происходящих в протоплазме, в миллионы раз больше, чем вне ее. Это объясняется тем, что в организме имеются катализаторы белковой природы, называемые ферментами, которые ускоряют течение отдельных химических реакций, а следовательно, и всего обмена веществ. Таким образом, ферменты играют важнейшую роль в обмене веществ, во взаимодействии организма с внешней средой.

Как известно, катализаторами называются вещества, оказывающие влияние на скорость химической реакции, но не входящие в состав ее конечных продуктов.



Павлов
Иван Петрович
(1849—1936)

Типичными катализаторами являются, например, мелкоизмельченные палладий или платина, а также вода. Так, например, водород и кислород чрезвычайно медленно реагируют друг с другом при обыкновенной температуре; для того чтобы они прореагировали и произошла реакция образования гремучего газа, необходимо применить высокую температуру, т. е. попросту зажечь смесь газов. При этом произойдет взрыв и образуется вода. Однако, если в смесь кислорода и водорода, находящуюся при обычной температуре, поместить кусочек мелкоизмельченной губчатой платины, то также произойдет взрыв с образованием воды.

Мелкоизмельченные платина и палладий способны катализировать многочисленные реакции, сопровождающиеся присоединением или отнятием водорода. Так, губчатый палладий, прибавленный к водным растворам спиртов или альдегидов, вызывает каталитическое отнятие водорода (дегидрирование) этих веществ с образованием соответственно альдегидов или кислот.

Прекрасным примером катализатора является вода. Известно, что смесь водорода и хлора на свету реагирует со взрывом, образуя хлористый водород. Если, однако, тщательно очистить хлор и водород от следов водяных паров, то реакции не произойдет; вода в данном случае играет роль катализатора. Точно так же целый ряд химических реакций в растворах чрезвычайно ускоряется под влиянием следов водородных ионов. Такое ускорение, например, наблюдается в случае гидролиза (расщепления при участии воды) различных сложных эфиров.

В чем же заключается механизм действия катализаторов?

Прежде всего необходимо указать, что скорость химической реакции зависит от частоты столкновения молекул. Поэтому те факторы, которые будут способствовать увеличению частоты столкновения молекул, будут также повышать скорость реакции. Такими факторами являются концентрация реагирующих веществ и температура. Чем выше концентрация, тем больше вероятность столкновения молекул реагирующих веществ. Чем выше температура, тем быстрее движутся молекулы, тем чаще они могут сталкиваться и тем, следовательно, выше скорость реакции.

Могут ли катализаторы влиять на эти два фактора, определяющие скорость химической реакции?

Несомненно, что при гетерогенном катализе, например, при действии губчатой платины или губчатого палладия, эти катализаторы ускоряют реакцию в немалой степени также и потому, что на их поверхности происходит концентрирование молекул реагирующих веществ. Однако в случае, когда мы имеем дело с гомогенным катализом, при котором реакция происходит в одной фазе, например в растворе или в газовой среде (в частности, при ускорении гидролиза сложных эфиров под действием ионов водорода), катализатор не оказывает влияния на концентрацию реагирующих веществ.

Точно так же катализатор не может изменить температуру реагирующих веществ, так как он не приносит энергию извне. Таким образом, при гомогенном катализе катализаторы изменяют скорость химических реакций не потому, что они повышают частоту столкновений молекул реагирующих веществ.

При изучении факторов, определяющих скорость химических реакций, было выяснено, что она зависит не только от концентрации и температуры. Оказалось, что число столкновений молекул для целого ряда реакций значительно больше, чем число прореагировавших молекул. Было установлено, что вступают в реакцию только лишь молекулы, находящиеся в активном состоянии. Таким образом, чем выше скорость химической реакции, тем больше активных молекул содержится в системе. Иными словами, возрастание скорости химической реакции при повышении температуры объясняется происходящим при этом увеличением количества активных молекул. Зависимость концентрации активных молекул от температуры выражается следующим уравнением:

$$[A^1] = [A] \cdot e^{-\frac{\mu}{2T}}$$

где e — основание натуральных логарифмов, A — общая концентрация молекул, A^1 — концентрация активных молекул, T — абсолютная температура и μ — некоторая величина, характерная для данных молекул и для данной реакции. Эта последняя величина характеризует ту избыточную энергию, которую необходимо при-

дать молекуле для того, чтобы перевести ее в активное состояние. Таким образом, эта величина характеризует собою энергию активации, потребную для осуществления данной реакции.

Активация молекул может быть произведена путем увеличения их кинетической энергии, т. е. путем увеличения скорости их движения при повышении температуры. Она может быть произведена также путем повышения не кинетической энергии движения молекул, а их внутримолекулярной энергии. Это имеет место, например, при фотохимических реакциях, когда молекулы поглощают определенное количество лучистой энергии, или же при столкновениях молекул с активными (возбужденными) молекулами или атомами, передающими им часть своей энергии.

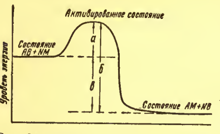


Рис. 34. Энергетическая схема химической реакции

Таким образом, химическая реакция между двумя видами молекул может произойти лишь в случае, если молекулы будут активированы, получат определенное дополнительное количество энергии, называемое энергией активации.

Мы можем графически изобразить это следующим образом. Если происходит экзотермическая реакция AB + NM → AM + + NB, то реагирующие молекулы должны преодолеть, так сказать, определенный «энергетический барьер». Они могут это сделать, лишь получив некоторое дополнительное количество энергии активации, выраженное отрезком *а*. При этом они перейдут в активное состояние, соответствующее «горбу» нашей кривой (рис. 34). Активные молекулы, вступив в реакцию, теряют определенное количество энергии, и уровень энергии в системе AM + NB будет поэтому находиться ниже энергетического уровня первоначальной системы AB + NM. Если идет обратная эндотермическая реакция AM + NB → AB + NM, то величина энергии активации будет выражена отрезком *б*. И в том, и в другом случае отрезок *в* является мерой теплоты реакции.

В чем же заключается сущность действия катализаторов? В том, что катализатор снижает энергию активации, необходимую для осуществления данной химической реакции, направляя ее, так сказать, «обходным» путем — через промежуточные реакции, которые требуют значительно меньшей энергии активации. Так, например, реакция AB → A + B в присутствии катализатора K идет следующим образом: AB + K → ABK и далее ABK → BK + + A и BK → B + K.

Происходит образование промежуточного соединения катали-

затора с субстратом и последующий распад этого соединения, причем катализатор регенерируется.

Эти промежуточные реакции требуют гораздо меньшей энергии активации, чем реакция, идущая без участия катализатора. Поэтому они идут со значительной быстротой, а следовательно, и скорость суммарной реакции AB → A + B также значительно повышается.

Снижение катализатором энергии активации, потребной для осуществления данной реакции, может быть показано на гидролизе сахарозы с образованием из нее глюкозы и фруктозы. Эта реакция требует для своего осуществления без участия катализатора энергии активации, равной 32 000 малых калорий на грамм-молекулу. Если реакция катализируется ионами водорода, то энергия активации снижается до 25 600 калорий, а в случае катализа ферментом сахаразой она составляет всего лишь 9 400 калорий. Точно так же реакция разложения перекиси водорода, происходящая без участия катализатора, требует энергии активации, равной 18 000 малых калорий на моль. Если реакция катализируется коллоидной платиной, то энергия активации понижается до 11 700 *кал/моль*, а в присутствии фермента каталазы — до 5 500 *кал/моль*.

Из этих цифр очевидно очень большое снижение энергии активации под влиянием катализаторов и вместе с тем то обстоятельство, что фермент значительно сильнее понижает энергию активации, чем неорганический катализатор. Понижение энергии активации субстрата, например сахарозы, под влиянием катализаторов, в частности ферментов, происходит вследствие некоторой деформации молекул субстрата, происходящей при образовании промежуточного комплекса катализатор — субстрат. Эта деформация ослабляет внутримолекулярные связи и делает молекулу значительно более способной к определенной реакции. На это в свое время указывал великий русский химик Д. И. Менделеев. Описывая в своих «Основах химии» каталитические, или, как он их называл, контактные явления, Д. И. Менделеев писал: «Должно думать, по моему мнению, что на точках прикосновения тел при контактных (т. е. каталитических. — *В. К*.) явлениях изменяется состояние внутреннего движения атомов в молекулах, а оно определяет химические реакции».

Это ослабление прочности связей в молекулах реагирующего вещества, происходящее под влиянием катализатора, в частности фермента, вызывает понижение энергии активации молекулы субстрата и, следовательно, ускоряет течение данной реакции.

Как было указано выше, для того чтобы фермент мог осуществить свое каталитическое действие, он должен вступить в соединение с субстратом. Образующиеся промежуточные соединения ферментов с субстратами крайне неустойчивы и поэтому не могут быть выделены. Однако их образование может быть показано с помощью спектральных методов, а именно путем изучения спек-

тров поглощения одного фермента и того же фермента в присутствии субстрата, на который он действует. Так, например, на рис. 35 представлены спектры поглощения окислительного фермента пероксидазы, выделенной из хрена, и промежуточного соединения пероксидазы с перекисью водорода, с помощью которой пероксидаза окисляет различные органические соединения. Из этого рисунка очевидно, что образование промежуточного соединения между ферментом и субстратом вызывает значительное изменение спектра поглощения.

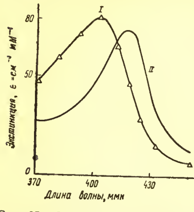


Рис. 35. Спектры поглощения пероксидазы хрена (I) и ее комплекса с перекисью водорода (II)

Если химическое превращение обратимо, то катализатор в принципе ускоряет скорость как прямой, так и обратной реакции. Направление процесса определяется концентрацией исходных и конечных продуктов реакции. Ферменты, являющиеся катализаторами белковой природы, также ускоряют прямую и обратную реакции. Это впервые было доказано в 1886 г. А. Я. Данилевским и его сотрудниками, показавшими, что расщепляющие белки протеолитические ферменты при определенных условиях обнаруживают синтетическое действие.

Вслед за работами Данилевского появился целый ряд исследований, подтвердивших его мысль об обратимости действия ферментов. Так, в 1898 г. Крофт-Хилл получил изомальтозу при действии фермента мальтазы на концентрированный раствор глюкозы. Блестящие работы по ферментативным синтезам глюкозидов были осуществлены в начале нынешнего столетия французским биохимиком Э. Буркло́ с сотрудниками. Буркло́ работал с ферментом β-глюкозидазой из миндаля и дрожжевой α-глюкозидазой. Эти ферменты сохраняют свою активность в концентрированных спиртовых растворах. Таким образом, в концентрированных растворах глюкозы в 80—95-процентном метиловом или этиловом спирте создаются чрезвычайно благоприятные условия для ферментативного синтеза соответствующего метил- или этил-глюкозида, так как незначительное количество воды и большие концентрации глюкозы и спирта вызывают сдвиг равновесия в сторону синтеза. При этих условиях Буркло́ синтезировал ряд глюкозидов, причем их выход достигал в отдельных опытах сотен граммов и даже килограммов.

Сдвиг равновесия в сторону синтеза может быть также достигнут при условии, что продукт, образующийся в результате фермен-

тативного синтеза, нерастворим, т. е. удаляется из сферы реакции. Исходя из этого принципа, М. Бергманн с сотрудниками синтезировал с помощью растительных протеолитических ферментов — папаина и фицина — целый ряд полипептидов. За последние годы осуществлены многочисленные ферментативные синтезы различных полисахаридов. В частности, с помощью фермента фосфорилазы из глюкозо-1-фосфата синтезирован такой сложный полисахарид, как амилоза.

С помощью ферментов, выделенных из различных микроорганизмов, удалось синтезировать наиболее сложные из всех известных нам природных соединений — нуклеиновые кислоты, молекулярный вес которых достигает нескольких миллионов.

Все эти ферментативные синтезы не только доказывают обратимость действия ферментов, но вместе с тем открывают новые пути органического синтеза, основанные на применении столь специфических и мощных катализаторов, какими являются ферменты.

Между ферментами и неорганическими катализаторами имеются существенные различия.

Мы уже отмечали выше, что каталитическая активность ферментов значительно превосходит активность неорганических катализаторов. Особенно хорошо это положение можно иллюстрировать следующим примером. Перекись водорода H_2O_2 разлагается благодаря каталитическому действию ионов железа на воду и кислород; эта же реакция катализируется ферментом каталазой. Однако каталитическая активность каталазы колоссально велика по сравнению с каталитической активностью ионов железа. Так, если 1 *моль* ионов железа при 0° в течение 1 *сек* разлагает 10^{-5} *молей* H_2O_2, то соответствующее количество каталазы при той же температуре и за тот же срок разложит 10^5 *молей* перекиси водорода.

Каталитическая активность фермента может быть охарактеризована его «числом оборотов». Согласно О. Варбургу, «число оборотов» представляет собою число молей превращенного субстрата, приходящееся на 1 *моль* фермента за 1 *мин*. Так, например, «число оборотов» фермента алкогольдегидрогеназы дрожжей, который в процессе спиртового брожения катализирует превращение уксусного альдегида в этиловый спирт, равно 4700; «число оборотов» упоминавшейся выше фосфорилазы картофеля равно 40 000, а фермента изомеразы фосфотриоз, катализирующего при брожении и дыхании взаимопревращения фосфодиоксиацетона и фосфоглицеринового альдегида, — 500 000.

Вторая весьма существенная особенность каталитического действия ферментов состоит в том, что оно строго специфично. Например, сахараза разлагает сахарозу и не действует на родственные дисахариды, как, например, мальтозу. Таким образом, действие ферментов направлено на совершенно определенные химические связи.

По образному выражению Эмиля Фишера, фермент подходит к своему субстрату так, как ключ подходит к замку. Схематически это структурное соответствие, необходимое для образования промежуточного соединения фермент—субстрат и осуществления ферментативной реакции, представлено на рис. 36.

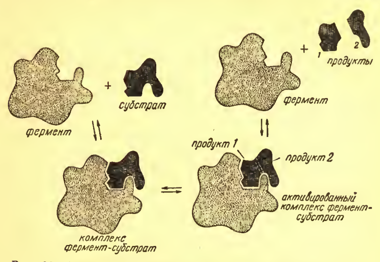


Рис. 36. Схема образования промежуточного соединения фермент-субстрат

Наконец, третьим свойством ферментов, отличающим их от неорганических катализаторов, является их большая лабильность, зависимость от целого ряда воздействий — концентрации водородных ионов, температуры, окислительно-восстановительных реакций, ничтожных примесей некоторых веществ.

Какова же химическая природа ферментов? Над этим вопросом ученые работали более ста лет с момента открытия ферментативного действия русским академиком К. С. Кирхгофом в 1814 г.

В результате этих исследований в настоящее время можно считать установленным, что каждый фермент обязательно содержит белок и что каталитические функции фермента теснейшим образом связаны с наличием в его молекуле белка. Более того, как установлено В. А. Энгельгардтом и М. Н. Любимовой, миозину мышцы, считавшемуся до сего времени лишь двигательным белком, свойственны ферментативные функции. Точно так же в нашей лаборатории показано, что так называемые «запасные» белки различных семян — альбумины и глобулины, которые со времен Т. Б. Осборна рассматриваются как совершенно инертные питательные вещества для развивающегося зародыша, обладают явно выраженным ферментативным действием. Таким образом, эксперименталь-

ные данные полностью подтверждают слова К. А. Тимирязева, писавшего в свое время: «Где есть белки, а они образуют основу того вещества, которое мы называем протоплазмой, мы имеем не только материал — самое сложное органическое вещество, но и орудие — фермент, обусловливающее возможность бесконечного ряда продуктов его распадения и их обратного синтеза. В комке белкового вещества потенциально дан весь разнообразный химизм живого тела»[1].

Все ферменты разделяют на два больших класса — ферменты, состоящие исключительно из белка, обладающего каталитическими свойствами, и ферменты, которые состоят из белковой части и небелковой части, называемой простетической группой. Таким образом, ферменты, принадлежащие к первому классу, являются однокомпонентными, а вторые — двухкомпонентными.

При исследовании химической природы ферментов очень большую роль сыграл метод их очистки, основанный на применении адсорбции. Этот метод впервые был применен для разделения ферментов, выделяемых поджелудочной железой, одним из основоположников отечественной биохимии А. Я. Данилевским в 1862 г. Позже он был широко использован Вильштеттером, очистившим и исследовавшим с помощью этого метода целый ряд ферментов. На основании своих исследований Вильштеттер обосновал теорию двухкомпонентной природы ферментов. Согласно этой теории, всякий фермент представляет собой сочетание активной группы, вступающей в химическое взаимодействие с субстратом, и коллоидального белкового «носителя», усиливающего каталитическое действие активной группы. Активную простетическую группу было предложено называть *агон*, а белковый носитель — *ферон*. Типичным двухкомпонентным ферментом является пируватдекарбоксилаза—фермент, катализирующий расщепление пировиноградной кислоты на углекислый газ и уксусный альдегид, согласно уравнению:

$$CH_3CO \cdot COOH \xrightarrow{\text{пируватдекарбоксилаза}} CH_3COH + CO_2$$

Подобное разложение пировиноградной кислоты с выделением углекислого газа — ее декарбоксилирование — может происходить под влиянием каталитического действия ряда сравнительно очень простых соединений, содержащих аминную группу. Таким соединением является, например, метиламин $CH_3 \cdot NH_2$. Он способен катализировать реакцию декарбоксилирования пировиноградной кислоты, но в сотни тысяч раз слабее, чем пируватдекарбоксилаза. Если в метиламин ввести карбоксильную группу и получить таким образом гликокол $HOOC \cdot CH_2 \cdot NH_2$, то каталитическая активность этого последнего соединения возрастает в 5 раз по сравнению с метиламином. Если еще более усложнить молекулу такого

[1] К. А. Тимирязев. Сочинения, т. 5, 1938, стр. 396.

искусственного катализатора, то каталитическая активность в отношении реакции декарбоксилирования еще более возрастет. Однако она будет все же значительно ниже, чем активность пируватдекарбоксилазы.

Химическая природа активной группы пируватдекарбоксилазы в настоящее время полностью выяснена. Она представляет собой соединение молекулы витамина B_1 и двух молекул фосфорной кислоты (см. стр. 152). Эта активная группа, соединяясь со специфическим белком, образует пируватдекарбоксилазу. Пируватдекарбоксилаза является примером фермента, активная группа которого содержит витамин. Мы уже указывали, что активные группы многих ферментов включают в себя тот или иной витамин. Витамин B_2 входит в состав активной группы некоторых ферментов, катализирующих окисление органических соединений, например аминокислот; витамин PP (никотиновая кислота) в виде своего амида участвует в построении активной группы ферментов дегидрогеназ, окисляющих органические соединения путем отнятия от них водорода; производное пиридоксина (витамина B_6) содержится в составе активной группы ферментов, катализирующих превращения аминокислот; пантотеновая кислота входит в состав так называемого кофермента А, при участии которого происходит ферментативный перенос остатков уксусной кислоты и синтез жирных кислот, лимонной кислоты, стеролов и каучука.

Таким образом, витамины являются неотъемлемой составной частью ряда важнейших ферментов.

Двухкомпонентными ферментами являются также ферменты, действующие на перекись водорода, — каталаза и пероксидаза.

Первый из этих ферментов катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и кислород по уравнению:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{каталаза}} 2H_2O + O_2.$$

Пероксидаза с помощью перекиси водорода окисляет полифенолы с образованием соответствующего хинона и воды:

```
         CH                                      CH
        //  \                                   //  \
  R—C        C—OH        O—H             R—C        C=O
    |        ||     +     |      ——→        |        |      + 2H2O
   HC        C—OH        O—H               HC        C=O
      \\   /                                  \\   /
        CH                                      CH
```

Действие каталазы и пероксидазы может быть воспроизведено с помощью ионов трехвалентного железа. Однако эти ионы обладают очень малой каталитической активностью. Последняя может быть значительно усилена, если железо войдет в состав гематина,

в котором четыре молекулы пиррола связаны между собой и с атомом железа, образуя комплексное соединение (см. стр. 319).

Гематин уже обладает значительным каталазным действием, но все же его каталитическая активность в несколько миллионов раз меньше активности каталазы, в которой гематин, являющийся активной простетической группой этого фермента, связан со специфическим белком. Гематин обладает также слабым пероксидазным действием. Однако это действие проявляется в полной мере лишь после соединения гематина со специфическим белком, что приводит к образованию пероксидазы.

Таким образом, на примере пероксидазы и каталазы мы можем убедиться в том, что ферон — белковая часть двухкомпонентного фермента, оказывает решающее влияние на специфичность его действия. Вместе с тем мы на этих же примерах убеждаемся в том, что соединение активной группы с белком приводит к огромному возрастанию ее каталитической активности.


Бертран Габриэль (1867—1962)

Прочность связи простетической группы (агона) и белковой части фермента (ферона) у разных ферментов различна. У некоторых ферментов, как, например, у дегидрогеназ, катализирующих окисление различных субстратов путем отнятия водорода (дегидрирование), эта связь является непрочной. Поэтому такие ферменты легко диссоциируют и распадаются на агон и ферон. Такая диссоциация двухкомпонентного фермента может произойти, например, при диализе. Агоны, легко отделяющиеся от белковой части фермента, по предложению выдающегося французского биохимика Г. Бертрана обычно называют *коферментами*.

Исследования показали, что теория двухкомпонентного строения ферментов не является всеобъемлющей. Как мы указывали, имеется целый ряд ферментов, которые являются протеинами, т. е. состоят лишь из одного компонента — белка.

В настоящее время целый ряд ферментов получен в виде белковых кристаллов, очищенных от различных примесей и обладающих чрезвычайно высокой каталитической активностью. На рис. 37 показаны в увеличенном виде белковые кристаллы однокомпонентного фермента уреазы, впервые полученного в кристаллическом виде Д. Самнером в 1926 г. Уреаза содержится в большом количестве

в семенах арбуза и сои. Этот фермент катализирует реакцию гидролитического разложения мочевины на аммиак и углекислый газ.

Типичным однокомпонентным ферментом, полученным в 1930 г. Г. Нортропом в виде прекрасно образованных кристаллов, изображенных на рис. 38, является пепсин желудочного сока, расщепляющий белки с образованием пептонов и полипептидов.

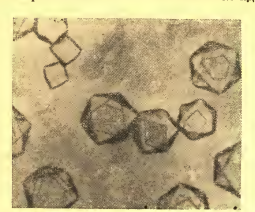


Рис. 37. Кристаллы уреазы (микрофотография)

В однокомпонентных ферментах роль активной группы — агона — выполняют определенные химические группировки, входящие в состав самого белка. Так, например, в пепсине роль агона играют фенольные группы тирозина.

Многие двухкомпонентные и однокомпонентные ферменты содержат в своем составе металлы, принимающие участие в каталитическом действии этих ферментов. Мы уже указывали выше, что железо входит в состав простетической группы каталазы и пероксидазы. Железо является неотъемлемой составной частью цитохромной системы, участвующей в процессе дыхания, а также ряда окислительных ферментов, катализирующих отнятие водорода от различных соединений. В состав окислительных ферментов полифенолоксидазы и аскорбатоксидазы, играющих важную роль

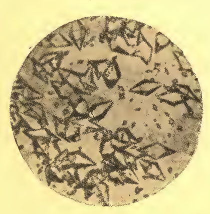


Рис. 38. Кристаллы пепсина (микрофотография)

в дыхании растений, входит медь. Фермент нитратредуктаза, катализирующий восстановление нитратов, содержит молибден, а карбонат-гидролиаза (угольная ангидраза), которая катализирует расщепление угольной кислоты на CO_2 и воду, — цинк.

Мы уже отмечали, что действие ферментов, в отличие от действия неорганических катализаторов, является строго специфичным и чрезвычайно сильно зависит от структуры субстрата. Особенно наглядные примеры подобной специфичности действия ферментов могут быть проведены при рассмотрении глюкозидаз — ферментов, катализирующих гидролиз и синтез глюкозидов.

Действие глюкозидаз прежде всего зависит от наличия в глюкозиде α- или β-глюкозидной связи. Природа моносахарида, глюкозидный гидроксил которого замещен тем или иным аглюконом, оказывает значительно меньшее влияние. Вместе с тем очень большое влияние на действие глюкозидаз оказывает структура аглюкона. Так, например, присоединение к глюкозидному гидроксилу глюкозы второй молекулы глюкозы у шестого углеродного атома этой последней (гентиобиоза) вместо четвертого (целлобиоза) снижает скорость гидролиза вдвое. Наличие в аглюконе аминной группы точно так же понижает интенсивность гидролиза. В табл. 12 приведены данные, показывающие, какое большое влияние оказывает структура аглюкона различных β-глюкозидов на скорость их расщепления эмульсином — ферментным препаратом из сладкого миндаля.

Прекрасным примером зависимости действия фермента от структуры субстрата является расщепление аргинина и его производных под действием фермента аргиназы, содержащегося в тканях животных, высших растениях, плесневых грибах и дрожжах. Этот фермент катализирует гидролитическое расщепление аргинина на орнитин и мочевину:

$$\begin{matrix} NH_2 \\ NH \end{matrix}\!\!>\!C{-}NH{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}\underset{\text{аргинин}}{CH(NH_2)\cdot COOH}+$$

$$+H_2O \rightarrow \underset{\text{мочевина}}{NH_2{-}CO{-}NH_2}+$$

$$+\underset{\text{орнитин}}{H_2N{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2\cdot CH(NH_2){-}COOH}$$

Однако аргиназа не расщепляет метилового эфира аргинина:

$$\begin{matrix} NH_2 \\ HN \end{matrix}\!\!>\!C{-}NH{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_2)COO\cdot CH_3.$$

Дипептид, состоящий из соединенных между собой остатков двух молекул аргинина, под действием аргиназы дает лишь поло-

Таблица 12

Скорость расщепления различных β-глюкозидов эмульсином[1]

Аглюкон	Формула	Скорость расщепления глюкозида
Метанол	$CH_3 \cdot OH$	0,034
Фенол	—OH	0,33
Салициловый спирт	CH_2OH, —OH	1,7
Орто-крезол	CH_3, —OH	4,3
Мета-крезол	H_3C, —OH	0,55
Пара-крезол	H_3C—, —OH	0,12
Салициловый альдегид	CHO, —OH	8,6
Кофейная кислота	HOOC·CH=CH—, —OH, OH	8,4
Протокатеховый альдегид	OHC—, —OH, OH	10,0
Ванилин	OHC—, —OH, OCH_3	13,0

* Углеродные и водородные атомы бензольного ядра в формулах опущены.

вину теоретического количества мочевины. Эти факты с полной очевидностью свидетельствуют о том, что аргиназа вступает в соединение с аргинином по месту его карбоксильной группы. Весьма интересно то, что расщепление молекулы аргинина происходит в месте, отдаленном от карбоксильной группы.

Говоря о специфичности действия ферментов, нужно отметить вместе с тем, что один и тот же фермент может обладать несколькими ферментными активностями. Так, например, показано, что трипсин — фермент, выделяемый поджелудочной железой, обладает способностью расщеплять не только белки, но также различные сложные эфиры аминокислот и некоторые амиды (см. стр. 291).

Как мы уже указывали выше, действие ферментов очень сильно зависит от целого ряда факторов. Это является следствием чрезвычайной лабильности ферментов, которая в свою очередь обусловлена тем, что ферменты являются белковыми веществами, особенно легко денатурирующимися и изменяющимися под влиянием ряда химических и физических воздействий. Лабильность ферментов имеет очень большое биологическое значение. Изменения в обмене веществ, происходящие под влиянием различных факторов внешней среды, обусловлены тем, что происходит изменение скорости отдельных ферментативных реакций, лежащих в основе обмена веществ.

Важнейшим фактором, от которого зависит действие ферментов, является температура. По мере возрастания температуры растет также и активность фермента. При определенной температуре, называемой оптимальной, действие данного фермента будет наиболее интенсивным. По мере дальнейшего повышения температуры начинается уменьшение действия фермента, которое прекращается полностью при температурах, близких к 100°C. Оптимальная температура лежит обычно при 40—50°C. Влияние температуры на фермент показано графически на рис. 39, иллюстрирующем зависимость от температуры действия окислительного фермента дегидрогеназы глютаминовой кислоты, выделенной из пшеничных зародышей.

Необходимо отметить, что оптимальная температура для действия данного фермента не является строго постоянной величиной — она зависит также от других условий, в частности от продолжительности реакции. Так, например, установлено, что при увеличении продолжительности действия фермента оптимальная температура сдвигается в сторону более низких величин. Это положение ясно видно из рис. 40. На нем изображены кривые, характеризующие влияние температуры на действие протеиназы — фермента, расщепляющего белки на полипептиды и аминокислоты. Из рисунка видно, что чем больше продолжительность опыта, а следовательно, продолжительность пребывания фермента при повышенных температурах, тем ниже становится оптимальная температура.

Снижение интенсивности действия фермента при повышении температуры сверх оптимальной объясняется начинающейся денатурацией образующего фермент белка. Таким образом, при температурах более высоких, чем оптимальные, происходит, с одной

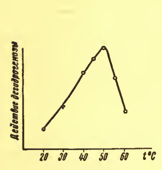


Рис. 39. Зависимость действия дегидрогеназы пшеничных зародышей от температуры

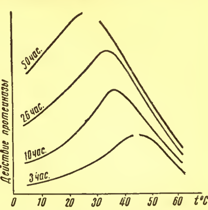


Рис. 40. Влияние продолжительности опыта на величину оптимальной температуры для действия протеиназы

стороны, ускорение реакции под влиянием повышения температуры и, с другой стороны, чрезвычайно быстрое денатурирование образующего фермент белка. Таким образом, скорость денатурации белка, а следовательно разрушение фермента, значительно обгоняет ускорение данной химической реакции, происходящее при повышении температуры.



Серенсен
Серен Питер
(1868—1940)

Поскольку белки, находящиеся в сухом состоянии, денатурируются значительно медленнее, чем белки, находящиеся в гидратированном состоянии (в виде белкового геля или раствора), инактивирование ферментов в сухом состоянии происходит гораздо медленнее, чем их инактивирование в присутст-

вии влаги. Именно с этим обстоятельством связан, например, тот факт, что сухое зерно выдерживает нагревание при гораздо более высоких температурах, чем то же зерно в увлажненном состоянии.

Как впервые показал выдающийся датский биохимик С. П. Сёренсен, вторым важным фактором, оказывающим очень большое влияние на каталитическую активность ферментов, является активная кислотность среды, ее pH. Каждый фермент проявляет свое действие, как правило, в пределах довольно узкой зоны значений pH. В этой зоне каталитическая активность фермента является наибольшей. Эта зона называется оптимальной зоной pH. На рис. 41 показана зависимость действия дегидрогеназы пшеничных зародышей от величины pH.

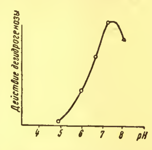


Рис. 41. Влияние pH на действие дегидрогеназы пшеничных зародышей

Различные ферменты сильно отличаются друг от друга по оптимальным для их действия величинам pH. Так, если оптимум действия дегидрогеназы глютаминовой кислоты из пшеничных зародышей, как это видно из рис. 41, лежит при pH 7,5, то оптимум действия пепсина находится при pH, равном 1,5, а солодовой амилазы — при pH 4,7—5,2.

Действие ферментов, как мы уже указывали, очень сильно зависит также от специфических активаторов и парализаторов (ингибиторов).

Так, например, действие многих ферментов активируется в присутствии незначительных количеств сульфгидрильных соединений, содержащих группу — SH. К числу этих соединений относится аминокислота цистеин и чрезвычайно широко распространенный в природе пептид глютатион. Как мы уже указывали ранее, глютатион состоит из остатков глютаминовой кислоты, цистеина и гликокола и может существовать в двух формах — восстановленной и окисленной (см. стр. 46). Обе эти формы легко превращаются одна в другую и играют важнейшую роль в регулировании окислительно-восстановительных процессов в протоплазме.

Особенно сильное активирующее действие восстановленный глютатион оказывает на расщепление белков протеиназами растений и на окисление янтарной кислоты соответствующим окислительным ферментом.

Угнетение (ингибирование) ферментов наблюдается прежде всего под влиянием так называемых белковых осадителей — веществ, дающих с белками нерастворимые осадки. Такими веществами являются соли тяжелых металлов (свинца, ртути, вольфрама), трихлоруксусная кислота CCl_3COOH, таннин. Угнетение действия ферментов этими веществами не является специфическим

и поэтому любой из этих белковых осадителей может быть применен для осаждения любого фермента и полного прекращения его действия.

Однако существуют специфические ингибиторы действия ферментов. Угнетение ими каталитических функций того или иного

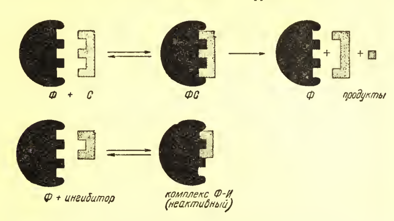


Рис. 42. Схема действия специфического ингибитора:

Ф — фермент, С — субстрат, ФС — промежуточный комплекс фермент—субстрат

фермента основано на специфическом связывании этих ингибиторов с определенными химическими группировками в простетической группе фермента. Так, например, синильная кислота является специфическим ингибитором ряда окислительных ферментов, содержащих в активной группе железо или медь. Вступая в химическое соединение с этими металлами, синильная кислота блокирует, таким образом, активную группу фермента, и вследствие этого фермент теряет свою активность.

Схематически действие такого специфического ингибитора представлено на рис. 42.

Действие на ферменты специфических активаторов и ингибиторов имеет большое значение для регулирования ферментативных процессов, происходящих в организме. Однако в живой клетке и в протоплазме регулирование действия ферментов осуществляется не только с помощью специфических активаторов и ингибиторов, но также при помощи связывания фермента на различных структурах протоплазмы. Так, например, установлено, что связывание некоторых ферментов с белками приводит к потере ферментами их активности. Наоборот, освобождение фермента из соединения с белком вновь восстанавливает его каталитическую активность. А. И. Опарин, Н. М. Сисакян и ряд других исследователей установили, что подобные процессы связывания ферментов с белками, сопровождающиеся потерей ферментативной активности, а также

ее восстановлением при освобождении фермента из этого соединения, играют очень большую роль в регулировании действия ферментов в живом организме. Их работы показали также, что целый ряд хозяйственно важных признаков растений — их зимостойкость, скороспелость, засухоустойчивость — теснейшим образом связаны с интенсивностью и направлением ферментативных процессов, которые в свою очередь регулируются путем связывания ферментов с белковыми структурами протоплазмы или их освобождения из этой связи.

КЛАССИФИКАЦИЯ И СВОЙСТВА ОТДЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

В настоящее время известно свыше 850 различных ферментов. Их классификация основывается на характере их действия. В соответствии с рекомендациями комиссии по ферментам Международного биохимического союза все они могут быть отнесены к следующим шести основным классам:

1. Оксидоредуктазы (окислительно-восстановительные ферменты). К этому классу ферментов относятся те из них, которые катализируют перенос атома водорода и перенос электронов (дегидрогеназы, оксидазы, пероксидазы, каталазы). Ферменты, относящиеся к этому классу, катализируют окислительно-восстановительные реакции, происходящие при дыхании и брожении.

2. Трансферазы (ферменты переноса). Они катализируют перенос целых атомных группировок, например остатков фосфорной кислоты, остатков моносахаридов и аминокислот, аминных или метильных групп, от одного соединения к другому.

3. Гидролазы. К классу гидролаз относится очень большое количество ферментов, катализирующих расщепление при участии воды различных сложных органических соединений на более простые. Подобное расщепление называется гидролизом, а соответствующие ферменты поэтому и называются гидролазами. Гидролазы катализируют реакции, которые могут быть выражены следующим типовым уравнением:

$$RR^1 + H{-}OH \rightleftarrows R \cdot OH + H \cdot R^1.$$

4. Лиазы. К этому классу принадлежат ферменты, катализирующие реакции негидролитического отщепления каких-либо групп от субстратов.

5. Изомеразы (ферменты изомеризации). К этому классу принадлежат ферменты, катализирующие превращения органических соединений в их изомеры.

6. Лигазы (синтетазы). К этому классу относятся ферменты, катализирующие соединение двух молекул, связанное с расщеплением пирофосфатной связи в АТФ или других нуклеозидтрифосфатах.

Эти шесть классов ферментов в свою очередь подразделяются на подклассы и еще более мелкие группы. Систематическая классификация и номенклатура ферментов изложена в отчете комиссии по ферментам Международного биохимического союза («Классификация и номенклатура ферментов», ИЛ, М., 1962).

Переходим к рассмотрению свойств отдельных классов ферментов.

Гидролазы

Класс гидролаз является весьма обширным и в свою очередь может быть подразделен на ряд более мелких подгрупп. Эти более мелкие подгруппы, относящиеся к гидролазам, следующие:

Эстеразы, катализирующие реакции расщепления и синтеза сложных эфиров в соответствии с уравнением.

$$R \cdot CO{-}O{-}R^1 + H_2O \rightleftarrows R \cdot COOH + R^1 \cdot OH,$$

где R представляет собой остаток органической (или неорганической) кислоты, а R^1 — остаток спирта или фенола.

Карбогидразы, катализирующие реакции типа:

$$R{-}O{-}R^1 + H_2O \rightleftarrows ROH + HOR^1,$$

где R представляет собой остаток моно-, ди- или полисахарида, а R^1 может быть также моно-, ди- или полисахаридом или же веществом неуглеводной природы, содержащим спиртовую или фенольную группу (например, аглюконы в глюкозидах). Кислородная связь в веществах, расщепляемых карбогидразами, имеет характер ацетальной или эфирной связи.

Амидазы, которые катализируют следующую реакцию:

$$\begin{matrix} R' \\ \diagdown \\ R''{=}C{-}NH \cdot R \end{matrix} + H_2O \rightleftarrows \begin{matrix} R' \\ \diagdown \\ R''{=}C{-}OH \end{matrix} + H_2NR,$$

где R представляет собой водородный атом или остаток орнитина, R' — аминную группу NH_2 или же остаток дикарбоновой аминокислоты и R'' — иминную группу $=NH$ или атом кислорода.

Протеазы. Ферменты, принадлежащие к этой подгруппе, катализируют реакции расщепления белка и полипептидов, выражаемые уравнением:

$$R \cdot CO \cdot NH \cdot R' + H_2O \rightleftarrows R \cdot COOH + H_2NR',$$

где R и R^1 представляют собой остатки аминокислот, ди- или полипептидов.

Эстеразы

Среди эстераз прежде всего необходимо отметить различные *липазы* — ферменты, катализирующие гидролитическое расщепление и синтез жиров в соответствии с уравнением:

$$
\begin{array}{l}
CH_2{-}O{-}OC{-}R^1 \\
| \\
CH{-}O{-}OC{-}R^2 + 3H_2O \xrightleftharpoons{\text{липаза}} \\
| \\
CH_2{-}O{-}OC{-}R^3
\end{array}
\begin{array}{l}
CH_2{-}OH \\
| \\
CH{-}OH + R^1COOH + \\
| \\
CH_2{-}OH
\end{array}
$$

$$+R^2COOH+R^3COOH$$

где R^1, R^2 и R^3 представляют собой радикалы высокомолекулярных жирных кислот: пальмитиновой, олеиновой, стеариновой и других.

Таким образом, липазы являются ферментами, действие которых направлено на сложноэфирную связь между глицерином и высокомолекулярными жирными кислотами. Липазы различного происхождения весьма существенно различаются между собой по своим свойствам и характеру действия.

В организме животных и человека наиболее активная липаза содержится в соке, выделяемом поджелудочной железой, а также в печени.

В растениях и микроорганизмах липаза содержится в двух формах — в виде нерастворимого и растворимого ферментов. Нерастворимая липаза содержится в семенах клещевины. Этот фермент теснейшим образом связан с белковыми веществами и является примером ферментов, осуществляющих свое каталитическое действие в полной мере, несмотря на нерастворимое состояние и связь с белками. С помощью клещевинной липазы можно не только произвести гидролиз жира, но при соответствующих условиях синтезировать глицерид из составляющих его жирных кислот и глицерина. Именно клещевинная липаза была одним из тех ферментов, с помощью которых впервые удалось экспериментально показать, что ферменты катализируют не только реакцию распада данного сложного органического соединения, но также его образование из более простых веществ, его синтез. Клещевинная липаза обладает большой специфичностью действия. Она практически почти не действует на водорастворимые сложные эфиры глицерина и низкомолекулярных жирных кислот — уксусной, пропионовой, валериановой и др. Оптимум действия клещевинной липазы соответствует pH 3,6.

Липаза, содержащаяся в семенах злаков, многих масличных культур и в микроорганизмах, в противоположность клещевинной липазе, является растворимым ферментом. Она также существенно отличается от липазы клещевины в том отношении, что оптимум ее действия на растительные масла находится при pH 8 (рис. 43).

Липаза имеет большое значение при хранении муки и круп, особенно содержащих большое количество жира, как, например, пшена. При повышенной влажности этих продуктов и повышенной

температуре хранения липаза быстро расщепляет глицериды с образованием свободных жирных кислот, что приводит к повышению кислотности продукта и его быстрому прогорканию.

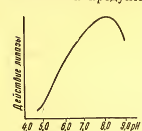


Рис. 43. Зависимость действия липазы пшеничного зерна от pH

К группе эстераз относится *танназа* — фермент, катализирующий гидролитическое расщепление таннина. Как мы указывали ранее, таннин представляет собой сложные эфиры ароматических кислот с фенолами или углеводами. Танназа обладает строгой специфичностью действия — она расщепляет только такие сложные эфиры, в кислотном компоненте которых имеется по крайней мере два фенольных гидроксила. Примером такого сложного эфира является дидепсид орселлиновой кислоты — *леканоровая кислота*, содержащаяся во многих лишайниках:

```
          H    CH3              H    CH3
          |   /                 |   /
          C—C        O          C—C
        //    \\    //        //    \\
  HO—C          C—C—O—C             C—COOH
        \     /               \     /
          C=C                   C=C
          H   \                 |   \
               OH               H    OH
```

Танназа найдена в плесневых грибах и лишайниках. В высших растениях ее присутствие пока не доказано. С помощью препарата танназы, получаемого из плесневых грибов, можно произвести ферментативный синтез метадигалловой кислоты из галловой кислоты.

Во всех зеленых растениях содержится специфическая эстераза, получившая название *хлорофиллазы*, весьма активно действующая в спиртовых растворах и осуществляющая реакцию «переэстерификации» хлорофилла. Эта реакция заключается в том, что фермент отщепляет от хлорофилла остаток фитола и заменяет его остатком того спирта, в среде которого ведется реакция:

$$\underset{\text{хлорофилл}}{R \cdot COO \cdot C_{20}H_{39}} + \underset{\text{этиловый спирт}}{C_2H_5OH} \xrightarrow{\text{хлорофиллаза}} \underset{\text{этилхлорофиллид}}{R \cdot COO \cdot C_2H_5} + \underset{\text{фитол}}{C_{20}H_{39}OH}$$

Оптимум действия хлорофиллазы находится при pH 5,9. Весьма интересно то обстоятельство, что активность хлорофиллазы в листьях особенно велика в мае и сентябре, т. е. в то время, когда интенсивность образования и распада хлорофилла является наибольшей.

К эстеразам относится также пектинэстераза, или *пектаза*, — один из ферментов, осуществляющих гидролитическое расщепление пектиновых веществ. Мы указывали ранее, что растворимый пектин представляет собой сложный эфир полигалактуроновой кислоты и метилового спирта (см. стр. 118). Пектаза как раз и расщепляет эту сложноэфирную связь с образованием свободной полигалактуроновой кислоты и метилового спирта. Образующаяся полигалактуроновая кислота легко дает пектаты — нерастворимые кальциевые соли, в виде которых выпадает в осадок. Пектаза содержится в различных микроорганизмах, особенно в плесневых грибах, а также в высших растениях, как, например, в люцерне, картофеле, в плодах цитрусовых растений.

Действие всех рассмотренных нами до сих пор эстераз направлено на расщепление сложноэфирной связи, образуемой спиртами и органическими кислотами. Имеется, однако, целый ряд специфических эстераз, расщепляющих сложные эфиры, образуемые неорганическими кислотами: серной и фосфорной. Первые из них называются *сульфатазами*, вторые — *фосфатазами*.

Среди *сульфатаз* можно назвать фермент *миросульфатазу*, гидролизующую рассмотренный нами ранее глюкозид синигрин, содержащийся в семенах черной горчицы (см. стр. 199). При увлажнении растертых семян горчицы под действием содержащейся в них миросульфатазы от синигрина отщепляется бисульфат калия. Реакция протекает по уравнению:

$$C_6H_{11}O_5S \cdot \underset{\displaystyle O \cdot SO_2 \cdot OK}{\underset{|}{C}}=N \cdot C_3H_5 + HOH \xrightarrow{\text{миросульфатаза}}$$

$$\rightarrow HO \cdot CH_2 \cdot \overbrace{CH \cdot CHOH \cdot CHOH \cdot CHOH \cdot CH}^{O} \cdot S - \underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{C}}=NC_3H_5 +$$

$$+ HO \cdot SO_2OK.$$

В семенах горчицы содержится также другой фермент — *тиоглюкозидаза*, расщепляющий далее глюкозидную связь у атома серы, причем образуются глюкоза и изородановый эфир аллилового спирта (эфирно-горчичное масло):

$$HO \cdot CH_2 \cdot \overbrace{CH \cdot CHOH \cdot CHOH \cdot CHOH \cdot CH}^{O} \cdot S - \underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{C}}=NC_3H_5 \xrightarrow{\text{тиоглюкозидаза}}$$

$$\rightarrow \underset{\text{глюкоза}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{изородановый эфир аллилового спирта}}{C_3H_5N=C=S}$$

Фосфатазы — ферменты, гидролизующие сложные эфиры фосфорной кислоты; чрезвычайно широко распространены в животных, растениях и микроорганизмах. Фосфатазы отличаются друг от друга по химической природе гидролизуемых ими субстратов. В соответствии с этим различают:

1) *монофосфатазы* (фосфомоноэстеразы), гидролизующие моноэфиры фосфорной кислоты: глицерофосфат, глюкозо-1-фосфат, глюкозо-6-фосфат;

2) *дифосфатазы*, гидролизующие диэфиры фосфорной кислоты, например диглицеринфосфорный эфир;

3) *фитазу* — фермент, отщепляющий остатки фосфорной кислоты от инозитфосфорной кислоты.

Монофосфатазы содержатся в самых разнообразных тканях и играют чрезвычайно важную роль, катализируя гидролиз и синтез глюкозо-1-фосфата и глюкозо-6-фосфата, образование которых является одним из важнейших этапов дыхания и брожения. Отщепление остатка фосфорной кислоты от лецитина также осуществляется под действием монофосфатазы.

Важной фосфатазой является фермент, катализирующий гидролиз фруктозодифосфата, играющего весьма существенную роль в процессах дыхания и спиртового брожения.

Фосфатазы, содержащиеся в различных тканях и клетках, различаются не только по тому, действуют ли они на моно- или диэфиры фосфорной кислоты, но также по оптимальным для их действия зонам pH. Некоторые из них имеют оптимум значения pH около 9 (щелочные фосфатазы), другие — при pH 5—6 (нейтральные фосфатазы) и третьи — при pH 3—4 (кислые фосфатазы).

Весьма активные фосфатазы обнаружены в пшеничном зерне и в клубнях картофеля. В картофеле найдена фосфатаза с оптимумом действия при pH 5,8 и щелочная фосфатаза, имеющая оптимум действия при pH 8; щелочная фосфатаза катализирует гидролитическое расщепление фруктозо-6-фосфата и фруктозо-1,6-дифосфата. Наконец, в картофельных клубнях найдена также чрезвычайно активная *апираза* — кислая фосфатаза, катализирующая отщепление двух остатков фосфорной кислоты от аденозинтрифосфорной кислоты.

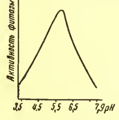


Рис. 44. Зависимость действия фитазы пшеничной муки от pH

В связи с тем, что фосфорные эфиры сахаров и аденозинтрифосфорная кислота играют первостепенную роль при ферментативных превращениях углеводов, несомненно, что высокая активность фосфатаз в картофеле теснейшим образом связана с процессом биосинтеза крахмала.

Фитаза отщепляет фосфорную кислоту от инозитфосфорной кислоты, которая в виде Ca-Mg-соли представляет собой фитин. Весьма активная фитаза содержится в дрож-

жах и в семенах многих растений. Оптимум действия фитазы, содержащейся в пшеничном зерне, как это видно из рис. 44, находится при pH 5,8. Фитаза играет большую роль в качестве фактора пищевой ценности хлеба. Инозитфосфорная кислота, образуя нерастворимые соли с кальцием, препятствует его усвоению человеческим организмом. Поэтому фитаза дрожжей и муки, расщепляющая в процессе брожения теста бо́льшую часть содержащейся в нем инозитфосфорной кислоты, способствует, таким образом, лучшему усвоению солей кальция.

К фосфатазам относятся также ферменты, катализирующие гидролиз дезоксирибонуклеиновых кислот, — *дезоксирибонуклеазы* и *нуклеотидазы.*

Нуклеотидазы относятся к группе монофосфатаз и отщепляют остаток фосфорной кислоты от нуклеотида:

азотистое основание — пентоза — остаток фосфорной кислоты
↑
действие нуклеотидазы

В результате образуются фосфорная кислота и нуклеозид, состоящий из соединенных между собою остатков пуринового или пиримидинового основания и пентозы. Дальнейшее расщепление образовавшегося нуклеозида происходит под действием фермента *нуклеозидазы*, принадлежащего к классу трансфераз (см. стр. 269). Фермент рибонуклеаза, катализирующий деполимеризацию рибонуклеиновой кислоты, относится к группе трансфераз (см. стр. 269).

Рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза и нуклеотидазы обнаружены в листьях и прорастающих семенах различных растений. Эти ферменты различаются рядом свойств, в том числе, как это видно из рисунка 45, своим отношением к pH.

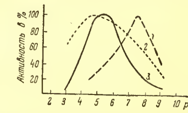


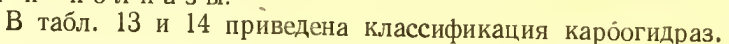
Рис. 45. Влияние pH на действие рибонуклеазы, дезоксирибонуклеазы и нуклеотидазы прорастающих семян райграсса:

1 — нуклеотидаза 2 — рибонуклеаза, 3 — дезоксирибонуклеаза

Карбогидразы

Карбогидразы представляют собой ферменты, катализирующие гидролиз и синтез глюкозидов, ди-, три- и полисахаридов. Действие карбогидраз направлено на связь →C—O—C←.

Карбогидразы разделяются в свою очередь на о л и г а з ы и п о л и а з ы.



В табл. 13 и 14 приведена классификация карбогидраз.

Таблица 13

Классификация олигаз

Фермент	Субстрат	
	общая структура	типичный пример
α-глюкозидаза	α-глюкозиды	мальтоза, сахароза, трегалоза
β-глюкозидаза	β-глюкозиды	салицин, гентиобиоза, целлобиоза;
α-галактозидаза	α-галактозиды	мелибиоза, рафиноза;
β-галактозидаза	β-галактозиды	лактоза
β-фруктозидаза	β-фруктозиды	сахароза, рафиноза.

Таблица 14

Классификация полиаз

Фермент	Субстрат действия
целлюлаза	целлюлоза
α-амилаза (гликогеназа)	крахмал, гликоген
β-амилаза	крахмал
инулиназа	инулин
протопектиназа	протопектин
пектиназа (полигалактуроназа)	полигалактуроновая кислота, пектин;
гемицеллюлазы	гемицеллюлозы

Олигазы. *α-глюкозидаза.* Фермент, расщепляющий α-глюкозидную связь в дисахаридах и глюкозидах. По-видимому, этот фермент тождествен с *мальтазой* — ферментом, гидролизующим мальтозу. Содержится в тканях растений, в плесневых грибах, дрожжах, бактериях. Особенно большое количество мальтазы имеется в проросшем просяном зерне. Просяной солод применяется в качестве добавки к ячменному солоду при изготовлении мальтозной патоки. Содержащаяся в просяном солоде активная мальтаза обеспечивает гидролиз мальтозы с образованием двух молекул глюкозы; поскольку глюкоза является более сладкой, чем мальтоза, это приводит к повышению сладости получаемой патоки. Естественным биологическим субстратом α-глюкозидазы является мальтоза. Однако сахароза, как α-глюкозид, также расщепляется α-глюкозидазой. Скорость расщепления мальтозы и сахарозы при оптимальных условиях для действия α-глюкозидазы, т. е. при pH 7,0, одинакова. α-глюкозидаза является одним из тех ферментов, с помощью которых можно показать, что фермент катализирует как реакцию гидролиза, так и реакцию синтеза α-глюкозидов из α-глюкозы и соответствующего спирта.

β-глюкозидаза. Фермент, расщепляющий β-глюкозидную связь в ди- и полисахаридах, а также в β-глюкозидах. Скорость расщепления различных субстратов β-глюкозидазой зависит от строения связанной с β-глюкозой части молекулы глюкозида. Значительное влияние на эту скорость оказывают также свойства белковой части фермента.

β-глюкозидаза может быть получена в виде очищеных препаратов из плесневых грибов, плодов миндаля, некоторых бактерий. Наиболее важными субстратами этого фермента являются дисахариды целлобиоза и гентибиоза, а также глюкозиды — амигдалин, арбутин и другие.

β-глюкозидаза угнетается аскорбиновой кислотой, но может быть защищена от этого угнетающего действия восстановленным глютатионом. Как мы уже указывали, с помощью β-глюкозидазы Э. Буркло́ был осуществлен синтез целого ряда глюкозидов.

α-галактозидаза. Этот фермент является специфически настроенным на расщепление α-галактозидов, как, например, рафинозы и мелибиозы. При действии α-галактозидазы на рафинозу происходит расщепление связи между остатком α-галактопиранозы и остатком α-глюкопиранозы. В результате из рафинозы образуется α-галактопираноза и сахароза.

α-галактозидаза содержится в пивных дрожжах и в так называемом «грибном солоде», или такадиастазе, — ферментном препарате, получаемом из плесневого гриба *Aspergillus oryzae.*

β-галактозидаза. Этот фермент называют также лактазой, поскольку он катализирует гидролитическое расщепление лактозы на глюкозу и галактозу. β-галактозидаза содержится в плодах миндаля, в так называемых лактозных дрожжах, вызывающих брожение различных молочных продуктов, в бактериях и плесневых грибах, в молочной железе животных. Сухие ферментные препараты, а также срезы, получаемые из молочной железы, вследствие наличия в них β-галактозидазы катализируют синтез лактозы из глюкозы и галактозы.

β-фруктофуранозидаза. Этот фермент обычно называют сахаразой, или инвертазой. Он катализирует расщепление сахарозы на глюкозу и фруктозу. В то время как α-глюкозидаза гидролизует сахарозу у α-глюкозидного углеродного атома остатка глюкозы, β-фруктофуранозидаза разрывает связь, находящуюся у β-глюкозидного углеродного атома остатка фруктозы.

Это различие в действии α-глюкозидазы и β-фруктофуранозидазы показано ниже.

Поскольку в рафинозе имеется такая же связь между остатком глюкозы и остатком фруктозы, как и в сахарозе, естественно, что β-фруктофуранозидаза гидролизует также рафинозу. При этом

действие α-глюкозидазы

действие β-фруктофуранозидазы

из рафинозы получается молекула фруктозы и молекула дисахарида мелибиозы, в котором остатки α-галактопиранозы и α-глюкопиранозы связаны по типу α-галактозида.

β-фруктофуранозидаза содержится в высших растениях, микроорганизмах и в пищеварительных соках животных. Особенно активен этот фермент в дрожжах, из которых его обычно получают в виде очищенных ферментных препаратов.

Полиазы. *Амилазы.* Среди полиаз наибольшее значение имеют амилазы — ферменты, под действием которых происходит гидролиз крахмала с образованием декстринов и мальтозы. Амилаза, которая очень часто называется также диастазом, была открыта в 1914 г. действительным членом Петербургской Академии наук К. С. Кирхгофом. Наиболее активные амилазы содержатся в слюне и в соке поджелудочной железы животных и человека, в плесневых грибах, в проросшем зерне. Обычно препараты амилазы получают из высушенного проросшего зерна (солода). При действии таких препаратов или вытяжек из солода на крахмал происходит его гидролиз. При этом образуются декстрины различного молекулярного веса и мальтоза, которая является конечным продуктом при полном расщеплении крахмала амилазами.

Амилазы гидролизуют как неизмененные крахмальные зерна, так и крахмальный клейстер. Гидролитическое расщепление амилазой неизмененных крахмальных зерен сопровождается образованием мальтозы и постепенным изменением формы крахмальных зерен — они как бы разъедаются ферментом и теряют свои первоначальные очертания. Это ясно видно на рис. 46, показывающем действие солодовой амилазы на крахмальные зерна пшеницы.

Необходимо отметить, что скорость расщепления амилазами крахмала различного происхождения, получаемого из зерна разных культур и сортов, или из разных частей одного и того же растения, различна. Эта различная податливость крахмала к действию амилазы, по предложению академика А. И. Опарина, получила название атакуемости крахмала. Таким образом, скорость расщепления крахмала амилазой зависит не только от количества и активности ферментов, но также от атакуемости субстрата. Атакуемость крахмала амилазами увеличивается с уменьшением разме-

ров крахмальных зерен или, иначе говоря, с увеличением их относительной поверхности. Атакуемость крахмала амилазами резко возрастает также при механическом нарушении структуры крах-

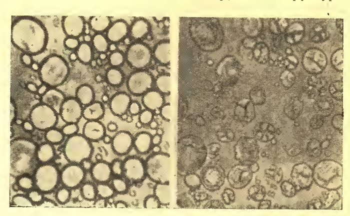


Рис. 46. Действие солодовой амилазы на пшеничный крахмал (слева — до действия, справа — после действия).

мальных зерен, при их длительном перетирании в ступке или при слишком длительном помоле зерна.

Однако действие амилазы на неизмененные или даже механически поврежденные крахмальные зерна является весьма слабым по сравнению с их действием на оклейстеренный крахмал. Поэтому в целом ряде отраслей пищевой промышленности, например в спиртовой промышленности, осахаривание крахмала солодом, являющимся источником активной амилазы, производится лишь после заваривания муки или измельченного картофеля.

Со времени открытия амилазы Кирхгофом в течение длительного времени считалось, что она представляет собою один фермент. Однако в настоящее время установлено, что имеются две амилазы: α-амилаза и β-амилаза. Эти два фермента различаются по своим свойствам, распространению в природе и способу действия на крахмал.

α-амилаза, иначе называемая декстриногенамилазой, животной амилазой или гликогеназой, содержится в слюне, пищеварительном соке, выделяемом поджелудочной железой, в плесневых грибах, в проросшем зерне пшеницы, ржи, ячменя.

β-амилаза (сахарогенамилаза, или растительная амилаза) содержится в зерне пшеницы, ржи, ячменя, в соевых бобах.

Эти два фермента существенно различаются между собой по характеру их действия на компоненты крахмала — амилозу и амилопектин. β-амилаза расщепляет амилозу нацело, превращая ее

на 100% в мальтозу. Если же субстратом для действия β-амилазы является амилопектин, то она расщепляет этот последний на мальтозу и декстрины, дающие коричнево-красное окрашивание с йодом. β-амилаза, как это показано на рис. 47, расщепляет с образо-

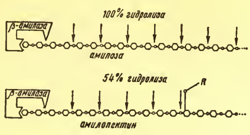


Рис. 47. Схема действия β-амилазы на амилозу и амилопектин

ванием мальтозы лишь свободные концы глюкозных цепочек; действие ее прекращается, когда дело доходит до разветвлений в молекуле амилопектина. Вследствие этого β-амилаза расщепляет амилопектин с образованием мальтозы всего лишь на 54%. Декстрины, образовавшиеся при действии β-амилазы на амилопектин, гидролизуются α-амилазой с образованием декстринов, обладающих меньшим молекулярным весом и не дающих окрашивания с йодом. При последующем, очень длительном действии α-амилазы на крахмал, в конце концов, около 85% его превращается в мальтозу.

Таким образом, при действии на крахмал β-амилазы образуется главным образом мальтоза и незначительное количество высокомолекулярных декстринов. При действии на крахмал α-амилазы образуются главным образом декстрины меньшего молекулярного веса и незначительное количество мальтозы.

Ни α-, ни β-амилаза в отдельности не могут полностью гидролизовать крахмал или гликоген с образованием мальтозы. При одновременном действии обеих амилаз крахмал гидролизуется на 95%.

α- и β-амилазы различаются также по своему отношению к реакции среды; α-амилаза гораздо более чувствительна к подкислению. Это ясно видно из рис. 48, на котором изображена зависимость действия α- и β-амилазы проросшего ржаного зерна от pH.

Рис. 48. Влияние pH на α-амилазу *(1)* и β-амилазу *(2)* проросшего зерна ржи

Мы уже указывали выше, что в проросшем зерне пшеницы и ржи содержится весьма активная α-амилаза. Поэтому в процессе брожения теста, приготовляемого из муки, полученной из проросшего

зерна, в нем накапливается значительное количество декстринов, придающих мякишу хлеба плохую эластичность, заминаемость, недостаточную пористость и неприятный вкус. Поскольку α-амилаза весьма чувствительна к повышению кислотности и резко понижает при этом свою активность, тесто из муки, полученной из проросшего зерна, замешивают обычно на так называемых жидких дрожжах или молочнокислых заквасках. Таким образом обеспечивают накопление в тесте повышенного количества молочной кислоты, угнетающей α-амилазу и нежелательное образование декстринов.

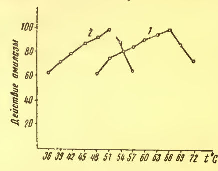
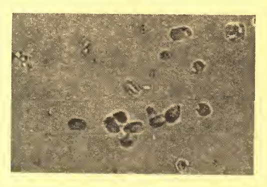


Рис. 49. Температурный оптимум α-амилазы (1) и β-амилазы (2) пшеничного зерна

α- и β-амилазы различаются также по своей термостабильности и температурному оптимуму действия. α-амилаза является более устойчивой к действию повышенных температур; ее температурный оптимум, как это видно из рис. 49, лежит несколько выше, чем температурный оптимум β-амилазы.

В течение длительного времени не было ясности в вопросе о химической природе амилазы. Уже давно было высказано предположение о том, что амилаза представляет собой белок. Это предположение в настоящее время можно считать доказанным. Амилаза поджелудочной железы, амилаза плесеней и бактерий, α- и β-амилазы ячменного солода получены в настоящее время в виде белко-


Рис. 50. Кристаллы α-амилазы ячменного солода (увеличено в 580 раз)

вых кристаллов (рис. 50 и 51). Таким образом, амилазы являются однокомпонентными ферментами.

α-амилаза *Aspergillus opryzae* имеет молекулярный вес 51860 и следующий аминокислотиый состав:

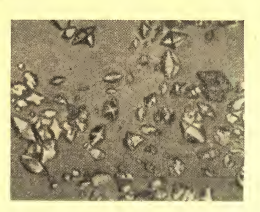


Рис. 51. Кристаллы α-амилазы плесневого гриба *Aspergillus oryzae* (увеличеио в 150 раз)

Аминокислота	*На 100 г белка, г*
Аспарагиновая кислота	15,91
Треоиии	8,38
Серин	6,04
Глютамииовая кислота	8,09
Пролии	4,22
Глиции	5,68
Алаиин	5,92
Валин	6,03
Метиоиии	2,14
Изолейции	6,34
Лейцин	7,64
Тирозин	10,88
Феиилалании	3,99
Гистидин	1,82
Лизии	4,77
Аргииин	2,97
Триптофан	3,78
Цистии/2	2,09
Аммиак	1,68

Был сделан ряд попыток выяснения природы тех химических группировок α- и β-амилазы, от которых зависит активность этих ферментов. Одним из методов исследования этого вопроса является устранение этих группировок из молекулы фермента. Это может быть достигнуто путем их разрушения или замещения какими-либо радикалами (например, бензоильными C_6H_5CO —, ацетильными CH_3CO —). Опыты, проведенные этим методом с препаратами β-амилазы, показали, что, по-видимому, активность этого фермента связана с наличием в его молекуле сульфгидрильных групп — SH. Окисление сульфгидрильных групп различными концентрациями йода приводило к соответствующему снижению активности фермента. Наоборот, если окисленный йодом фермент подвергался действию сероводорода, восстанавливавшего окисленные йодом сульфгидрильные группы, то активность фермента также полностью восстанавливалась.

Аналогичные опыты, проведенные с препаратами α-амилазы, показали, что активными группами этого фермента являются, по всей вероятности, сульфгидрильные и аминные — NH_2 группы.

Результаты, полученные при этих исследованиях, имеют также то значение, что указывают на тесную связь между действием гидролитических ферментов, какими являются α- и β-амилазы, и окислительно-восстановительными процессами, происходящими в живой клетке.

Весьма интересным обстоятельством является то, что семена растений различаются по содержанию в них α- и β-амилазы. В непроросших семенах пшеницы, ржи и ячменя содержится только лишь β-амилаза; α-амилаза образуется в них только лишь при прорастании. В соевых бобах как непроросших, так и проросших, содержится только лишь β-амилаза. В непроросших семенах сорго содержится главным образом α-амилаза. Таким образом, неправильно весьма широко распространенное мнение о том, что α-амилаза содержится только лишь в проросшем зерне.

Мы уже отмечали ранее, что ферменты могут присутствовать в клетке в связанном с белками состоянии, и тогда они не обладают гидролитической активностью. Академики Бах и Опарин установили, что, если пшеничная клейковина, совершенно не обладающая амилазным действием, будет подвергнута перевариванию протеолитическим ферментом, растворяющим белки клейковины, то эта последняя обнаруживает сильное амилолитическое действие. Это происходит вследствие того, что амилаза, связанная с белками клейковины, освобождается при переваривании этой последней протеолитическим ферментом. Академик Опарин с сотрудниками показал далее, что в результате связывания амилазы с белками и дубильными веществами происходит ее полное инактивирование.

Подобного рода связывание амилаз с белками играет большую роль в качестве фактора, регулирующего их действие в прорастающем и созревающем зерне.

Амилаза имеет большое значение в хлебопекарной, пивоваренной, спиртовой и текстильной промышленности.

Брожение теста и накопление в нем углекислого газа, разрыхляющего его и придающего хлебу равномерную пористость и хороший объем, зависят от содержания в тесте сбраживаемых дрожжами сахаров. В свою очередь содержание сахара в тесте зависит не толь-

ко от количества сахара, присутствующего в муке, но также от скорости накопления мальтозы при действии амилазы на крахмал. С другой стороны, как указывалось, слишком энергичное действие α-амилазы, содержащейся в большом количестве в муке из проросшего пшеничного или ржаного зерна, вызывает избыточное накопление в тесте декстринов и, вследствие этого, ухудшение качества хлеба — его пористости, физических свойств мякиша, вкуса.

Солод, применяемый при изготовлении пива и при осахаривании картофельных или мучных заторов в спиртовой промышленности, является, в сущности говоря, источником активной амилазы, вызывающей превращение крахмала в сбраживаемый сахар — мальтозу. Весьма активный «грибной солод» может быть получен из различных плесневых грибов, особенно из *Aspergillus oryzae*. Грибной солод с успехом применяется в спиртовой и хлебопекарной промышленности.

Целлюлаза. Этот фермент производит гидролитическое расщепление клетчатки с образованием целлобиозы. Таким образом, целлюлаза является ферментом, как бы аналогичным β-амилазе, расщепляющей крахмал с образованием мальтозы. По-видимому, целлюлаза представляет собою комплекс двух ферментов. Один из них гидролизует целлюлозу до целлодекстринов, а другой расщепляет образующиеся целлодекстрины с образованием целлобиозы. Целлюлаза содержится в проросшем зерне, в некоторых бактериях и плесневых грибах. Особенно активен этот фермент в грибах, развивающихся на древесине и являющихся, подобно «домовому грибу» (*Merulius lacrymans*), опасными вредителями древесины. Большое количество активной целлюлазы выделяют также бактерии, живущие в желудке травоядных животных. Способность этих животных переваривать и усваивать клетчатку зависит именно от жизнедеятельности бактерий, населяющих их желудок и растворяющих клетчатку с помощью целлюлазы.

Инулиназа. Этот фермент, называемый также инулазой, найден в высших растениях, накапливающих большие количества инулина, а также в плесневых грибах. Под действием инулиназы инулин гидролизуется с образованием фруктозы.

Гемицеллюлазы. Под этим названием объединяются ферменты, катализирующие гидролиз различных гемицеллюлоз. Гемицеллюлазы найдены в прорастающих семенах и плесневых грибах. Группа гемицеллюлаз изучена очень слабо.

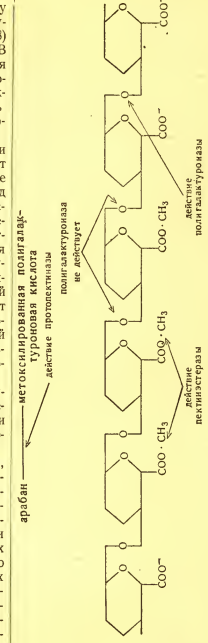
Протопектиназа и полигалактуроназа (пектиназа). Пектиновые вещества расщепляются под действием ряда ферментов. Расщепление протопектина происходит под действием фермента протопекти-

назы, который, по-видимому, расщепляет связи, имеющиеся между метоксилированной полигалактуроновой кислотой (см. стр. 118) и связанным с ней арабаном. В результате образуется свободная метоксилированная полигалактуроновая кислота (растворимый пектин), которая в свою очередь гидролизуется под действием фермента пектазы.

Пектаза, как мы уже указывали ранее (см. стр. 273), принадлежит к группе эстераз и ее правильнее называть пектинэстеразой. Под действием пектинэстеразы происходит гидролитическое отщепление метоксильных групп от растворимого пектина, и образуются метиловый спирт и полигалактуроновая кислота. Фермент полигалактуроназа, часто называемый также пектиназой, катализирует гидролиз имеющихся в пектиновых веществах глюкозидных связей между не содержащими метоксильных групп остатками галактуроновой кислоты.

Действие ферментов, катализирующих гидролиз пектиновых веществ, может быть схематически представлено следующим образом: (см. схему справа).

В отличие от пектинэстеразы, которая содержится как в высших растениях, так и в различных микроорганизмах, полигалактуроназа встречается главным образом у различных бактерий и плесневых грибов; в высших растениях она встречается редко (в частности, она найдена в плодах томатов). Что касается протопектиназы, то она изучена очень слабо, и даже высказываются сомнения в существовании этого фермента.



Препараты, содержащие ферменты, гидролизующие пектиновые вещества, получают обычно из различных плесневых грибов. Эти препараты применяются в пищевой промышленности для осветления фруктовых соков, а также плодовых и виноградных вин, в которых обычно содержится большое количество растворимого пектина, затрудняющего фильтрование и являющегося причиной их недостаточной прозрачности.

Амидазы

К этой группе гидролитических ферментов принадлежат уреаза, аспарагиназа, глютаминаза и аргиназа.

Уреаза, как мы уже отмечали, может быть получена в кристаллическом виде (см. рис. 37). Она содержится в растениях, плесневых грибах и некоторых бактериях. Особенно большие количества уреазы содержатся в семенах сои и канавалии, из которых ее обычно получают в кристаллическом виде. Весьма активную уреазу содержат также бактерии, вызывающие разложение мочевины (уробактерии), которое происходит в больших масштабах при разложении навоза.

Кристаллическая уреаза обладает свойствами глобулина и содержит обычно около 1—2% золы. Ее элементарный состав следующий: С—51,6%; Н—7,1%; N—16,0%; S—1,2%. Изоэлектрическая точка уреазы находится при pH = 5,0—5,1. Уреаза разлагает мочевину на аммиак и углекислый газ в соответствии с уравнением:

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O = H_2O + CO_2 + 2NH_3.$$

Действие уреазы чрезвычайно специфично — она разлагает только мочевину. При исследовании ее действия на целый ряд производных мочевины ни в одном случае не было обнаружено гидролиза. Благодаря чрезвычайной специфичности действия уреазы она применяется для количественного определения мочевины. Интересно то обстоятельство, что животные, у которых в качестве продукта азотистого обмена образуется мочевина, не содержат уреазы.

Аспарагиназа и глютаминаза являются ферментами, катализирующими гидролиз аспарагина и глютамина. Аспарагин разлагается аспарагиназой на аспарагиновую кислоту и аммиак:

$$H_2N \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH + HOH \rightarrow NH_3 + \\ + HOOC \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH.$$

Глютамин под действием глютаминазы гидролизуется с образованием глютаминовой кислоты и аммиака:

$$H_2N \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH + HOH \rightarrow NH_3 + \\ + HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH)_2COOH.$$

В течение длительного времени предполагали, что эти реакции катализируются одним и тем же ферментом. Однако в настоящее время можно считать установленным, что аспарагиназа и глютами-

наза являются различными ферментами. Они найдены в тканях животного организма, в плесневых грибах, в дрожжах, в бактериях и высших растениях. Оптимальная зона для действия аспарагиназы и глютаминазы лежит около pH 8,0.

Различие глютаминазы и аспарагиназы проявляется в том, что действие первой из них активируется цианистым калием, в то время как на активность аспарагиназы он не действует.

Аспарагиназа и глютаминаза играют весьма существенную роль в азотистом обмене растений, поскольку они катализируют превращения амидов дикарбоновых аминокислот, накапливающихся в больших количествах в растениях и являющихся очень важными промежуточными продуктами обмена веществ.

Аргиназа является ферментом, катализирующим гидролитическое расщепление L-аргинина на орнитин и мочевину. Эта реакция происходит в соответствии с уравнением:

$$\begin{matrix} H_2N \\ HN \end{matrix}\!\!>\!C-NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH(NH_2)\cdot COOH +$$

аргинин

$$+ HOH \rightarrow \begin{matrix} H_2N \\ HN \end{matrix}\!\!>\!C-OH + H_2N\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH\cdot NH_2\cdot COOH.$$

орнитин

$$\searrow \begin{matrix} H_2N \\ H_2N \end{matrix}\!\!>\!C=O$$

D-аргинин аргиназа не расщепляет.

Оптимальная зона для действия аргиназы находится в сильнощелочной среде при pH 10. Поскольку аргиназа активируется солями марганца, предполагают, что она представляет собой белок, содержащий марганец. Аргиназа играет очень важную роль при образовании мочевины в организме.

Протеазы

Протеазы являются ферментами, катализирующими гидролитическое расщепление белков и полипептидов, в соответствии с уравнением:

$$R\cdot CO \vdots NH\cdot R^1 + HOH \rightleftarrows RCO\cdot OH + H_2NR^1.$$

Таким образом, протеазы катализируют расщепление пептидной связи —CO—NH—. Протеазы обычно разделяют на пептидазы и протеиназы.

До последнего времени считалось, что первые из них катализируют гидролитическое расщепление полипептидов и дипептидов,

а вторые могут осуществлять непосредственно гидролиз белка. Однако в настоящее время, главным образом благодаря работам М. Бергманна, наши представления о характере действия протеаз изменились. Бергманном было показано, что протеиназы — пепсин, трипсин и папаин — гидролизуют пептидные связи не только в белках, но и в различных полипептидах и дипептидах. Поэтому Бергманн предложил называть все протеолитические ферменты пептидазами. Однако все же имеется существенное различие в механизме действия протеиназ и собственно пептидаз по прежней терминологии. Собственно пептидазы катализируют расщепление только тех пептидных связей, которые соединяют концевые остатки аминокислот с главной полипептидной цепью; по терминологии Бергманна, эти ферменты называются экзопептидазами.

Протеиназы расщепляют также пептидные связи, удаленные от концевых остатков аминокислот в пептидной цепи; поэтому Бергманн предложил называть их эндопептидазами.

Пептидазы. Ферменты, осуществляющие гидролиз пептидов; обладают весьма большой специфичностью действия. Установлено, что их действие на субстрат зависит от расположения в нем определенных химических группировок — наличия водородного атома в пептидной связи, аминной — NH_2, карбоксильной — COOH групп и т. п. В соответствии с этим принято следующее подразделение пептидаз:

1. Пептидазы, расщепляющие пептидные связи, содержащие водород —CO—NH—: а) аминопептидаза, карбоксипептидаза; б) дипептидаза, пролиназа.

2. Пептидазы, расщепляющие пептидные связи, не содержащие водорода =N—CO—: пролидаза.

Необходимой предпосылкой для расщепления какого-либо полипептида аминопептидазой является наличие аминной группы в непосредственной близости к пептидной связи. Полипептид, расщепляемый карбоксипептидазой, должен обладать свободной карбоксильной группой, расположенной по соседству с гидролизуемой ферментом пептидной связью. *Пролиназа* расщепляет только такие полипептиды, в образовании пептидной связи которых принимает участие карбоксильная группа пролина.

Пролидаза катализирует гидролитическое расщепление пептидов, в которых азот пролина связан кислотно-амидной связью.

$$\begin{array}{l} H_2C\text{—}CH_2 \\ \;|\qquad\;\; | \\ H_2C\quad CH\cdot CO\text{—}NH\cdot CH_2\cdot COOH + HOH \rightarrow \\ \quad\diagdown\;\diagup \\ \quad\; NH \end{array}$$

пролилглицин

$$
\begin{array}{l}
\quad\quad\quad\quad H_2C\text{—}CH_2 \\
\quad\quad\quad\quad |\quad\quad\quad | \\
\xrightarrow{\text{пролиназа}} H_2C \quad CH\cdot COOH + \underset{\text{гликокол}}{H_2N\cdot CH_2\cdot COOH} \\
\quad\quad\quad\quad\quad \diagdown \diagup \\
\quad\quad\quad\quad\quad \underset{\text{пролин}}{NH}
\end{array}
$$

$$
\begin{array}{l}
H_2C\text{—}CH_2 \\
|\quad\quad\quad | \\
H_2C \quad CH\cdot COOH \\
\quad \diagdown \diagup \\
\quad\quad N \\
\quad\quad | \leftarrow\text{-------- место действия пролидазы} \\
\underset{\text{глицилпролин}}{CO\cdot CH_2\cdot NH_2}
\end{array}
$$

Аминопептидаза выделяется слизистой оболочкой тонких кишок. Она содержится также в дрожжах и в клетках поджелудочной железы. Аминопептидаза гидролизует полипептиды по месту пептидной связи, расположенной у того конца пептида, на котором имеется свободная аминная группа.

$$
\begin{array}{l}
H_2N\cdot \underset{\displaystyle R}{\underset{|}{CH}}\cdot CO\text{—}NH\cdot \underset{\displaystyle R_1}{\underset{|}{CH}}\cdot CO\cdot NH\cdot \underset{\displaystyle R_2}{\underset{|}{CH}}\cdot CO\ldots \\
\quad\quad\quad\quad\quad \uparrow \\
\quad\quad\quad \text{место действия аминопептидазы}
\end{array}
$$

Оптимум действия аминопептидазы находится при $pH = 7—8$. Синильная кислота, сероводород, йод и ионы тяжелых металлов угнетают действие аминопептидазы.

Карбоксипептидаза расщепляет в полипептидах пептидную связь, находящуюся рядом со свободной карбоксильной группой пептида:

$$
\begin{array}{l}
\quad\quad\quad\quad\quad\quad COOH \\
\quad\quad\quad\quad\quad \diagup \\
X\cdot CO\text{—}NH\cdot C\cdot H \\
\quad\quad \uparrow \quad\quad\quad \diagdown \\
\quad\quad | \quad\quad\quad\quad R
\end{array}
$$

место действия карбоксипептидазы

Карбоксипептидаза получена в кристаллическом состоянии (рис. 52) и представляет собою нерастворимый в воде однокомпонентный фермент. Карбоксипептидаза содержится в кишечнике и в поджелудочной железе.



Рис. 52. Кристаллы карбоксипептидазы (микрофотография)

Дипептидаза, как показывает ее название, катализирует гидролитическое расщепление дипептидов на свободные аминокислоты. Так, например, глицилглицин расщепляется ею на две молекулы гликокола:

$$CH_2\begin{cases}NH_2 \\ CO-NH-CH_2\end{cases}COOH + HOH \xrightarrow{\text{дипептидаза}} 2CH_2(NH_2)COOH.$$

Дипептидаза расщепляет только такие пептидные связи, по соседству с которыми находятся одновременно как свободная аминная, так и свободная карбоксильная группы. Весьма существенной предпосылкой для действия дипептидазы является наличие α-водородных атомов, находящихся у атомов углерода, связанных со свободной карбоксильной и аминной группами. Если заменить эти водородные атомы какими-либо другими группировками, как, например, метильной — CH_3, то происходит резкое снижение расщепляемости дипептида дипептидазой; если вместо метильного радикала будет введен какой-либо более крупный радикал, то это приводит к полной нерасщепляемости субстрата дипептидазой.

На этом примере мы опять-таки можем ясно видеть, какое большое влияние на действие фермента и на атакуемость им субстрата оказывают определенные химические группировки, содержащиеся в молекуле субстрата.

Дипептидаза содержится в поджелудочной железе, почках и кишечнике животных, дрожжах, в проросших семенах. Дипептидаза угнетается сероводородом, синильной кислотой, йодом, хлороформом, анилином, фенилгидразином, ионами магния, кальция и тяжелых металлов. Оптимум действия дипептидазы находится при pH 7,6.

Протеиназы. Среди протеиназ необходимо отметить пепсин, трипсин, химотрипсин и протеиназы типа папаина или катепсина.

Все эти протеиназы гидролизуют непосредственно белок. При этом из белка образуются пептоны, полипептиды и свободные аминокислоты. Протеиназы обладают также способностью вызывать створаживание молока.

Пепсин представляет собой протеиназу, выделяемую слизистой оболочкой желудка. Он может быть получен в виде белковых кристаллов. Вид кристаллов пепсина под микроскопом показан на рис. 38.

Кристаллический пепсин является альбумином, содержащим 52,4% углерода, 6,67% водорода, 0,22% хлора и 0,86% серы. Он содержит 10,3% тирозина, 2,2% триптофана, 1,4% цистина, 6,8% аспарагиновой кислоты, 18,6% глютаминовой кислоты. Для действия пепсина оптимальной средой является pH 1,2—1,5.

Кристаллический пепсин обладает очень большой каталитической активностью —1 *г* его растворяет за 2 часа 50 000 *г* сваренного яичного белка и вызывает створаживание 100 000 *л* молока.

Исследования показали, что кристаллический пепсин является однородным веществом, поскольку при многократных повторных перекристаллизациях получаемые препараты его имеют тот же состав и ту же каталитическую активность.

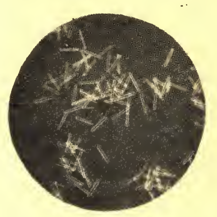


Рис. 53. Кристаллический трипсин (микрофотография)

Пепсин гидролизует самые разнообразные белки: казеин, глобин, гистоны, кератин рогов, ногтей и перьев, все белки растительного происхождения. Он не переваривает протамины, кератин волос, белок губок (спонгин).

Мы уже указывали ранее, что пепсин гидролизует не только белки, но также полипептиды и дипептиды. Установлено, что он преимущественно расщепляет лишь те пептидные связи, в образовании которых принимают участие аминные группы тирозина или фенилаланина.

В клетках слизистой оболочки желудка пепсин содержится в виде своего неактивного зимогена, называемого *пепсиногеном*. Пепсиноген также может быть получен в виде белковых кристаллов, не обладающих гидролитическим или створаживающим действием. В результате воздействия на пепсиноген соляной кислоты он превращается в активный пепсин.

Трипсин представляет собой протеиназу, содержащуюся в числе других ферментов в соке, выделяемом поджелудочной железой. Так же, как и пепсин, трипсин может быть получен в виде белковых кристаллов, вид которых под микроскопом показан на рис. 53.

Кристаллический трипсин содержит 16,1% азота и 1,1% серы. Молекулярный вес его, определенный с помощью измерений осмотического давления, = 34 000. Изоэлектрическая зона находится между pH 7 и 8. Оптимальная зона кислотности для трипсина соответствует pH 8—9. Степень гидролиза белков под действием кристаллического трипсина приблизительно соответствует действию кристаллического пепсина. Однако неочищенный трипсин обладает гораздо большей гидролитической активностью в отношении белков.

Мы уже указывали ранее, что трипсин гидролизует не только белки, но и пептиды. Как показали исследования М. Бергманна и его сотрудников, кристаллический трипсин специфически катализирует гидролиз только таких пептидных связей, в которых участвует карбоксильная группа лизина или аргинина.

В 1899 г. Шеповальников, работавший в лаборатории академика И. П. Павлова, установил, что в пищеварительном соке, выделяемом поджелудочной железой, трипсин содержится в неактивном состоянии, в виде зимогена. Этот зимоген был назван *трипсиногеном*. Превращение трипсиногена в трипсин совершается под влиянием ничтожных количеств трипсина, который в свою очередь образуется из трипсиногена под действием ферментоподобного вещества — *энтерокиназы*. Энтерокиназа была открыта Шеповальниковым; она содержится в пищеварительном соке, выделяемом слизистыми оболочками кишечника. Таким образом, активация трипсиногена представляет собой автокаталитический процесс: энтерокиназа, действуя на трипсиноген, образует трипсин, а этот последний вызывает превращение всего количества трипсиногена в активный трипсин.

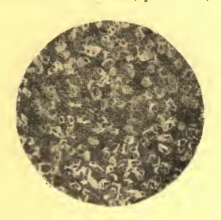


Рис. 54. Кристаллический химотрипсин (микрофотография)

Молекула трипсина активирует молекулу трипсиногена путем гидролиза этого последнего по определенным пептидным связям. В процессе активации из одной молекулы трипсиногена освобождается одна молекула гексапептида. Как показали новейшие исследования, при действии энтерокиназы также происходит освобождение этого гексапептида. Таким образом, результаты исследований подтверждают представление И. П. Павлова о том, что энтерокиназа является протеолитическим ферментом.

В пищеварительном соке, выделяемом поджелудочной железой, содержится з и м о г е н, называемый *химотрипсиногеном*. Под действием следов трипсина он превращается в весьма активную протеиназу — *химотрипсин* (рис. 54). Химотрипсиноген не активируется энтерокиназой и химотрипсином. Таким образом, протеиназы, содержащиеся в соке, выделяемом поджелудочной железой, остаются неактивными до тех пор, пока они не попадают в тонкий кишечник и не вступают в контакт с энтерокиназой. Она активирует трипсиноген с образованием трипсина; этот последний в свою очередь активирует трипсиноген и химотрипсиноген. Акти-

вирование зимогена и превращение его в активную форму фермента осуществляется чрезвычайно малыми количествами активатора. Так, например, активирование кристаллического химотрипсиногена происходит уже в присутствии 0,001 *мг* трипсина.

Необходимо отметить, что в семенах сои и других бобовых растений найден ингибитор трипсина и химотрипсина, который вызывает у животных задержку роста. Этот ингибитор получен в кристаллическом виде и представляет собою белок, принадлежащий к группе глобулинов. Добавление его к пище молодых мышей вызывает сильную задержку роста.

Рядом работ, проведенных за последние годы, показано, что трипсин и химотрипсин катализируют не только расщепление пептидных, но также сложноэфирных и амидных связей. Так, например, трипсин чрезвычайно энергично расщепляет метиловый (или этиловый) эфир бензоил-L-аргинина с образованием соответствующего спирта и бензоил-L-аргинина:

$$\begin{array}{c} H_2N{-}C{=}NH \\ | \\ NH \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ C_6H_5\cdot CO{-}NH\cdot CH{-}CO{-}OCH_3 \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} NH{=}C{-}NH_2 \\ | \\ NH \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ C_6H_5CO{-}NH\cdot CH{-}COOH \end{array} + HOCH_3$$

расщепляемая трипсином сложноэфирная связь (связь CO—OCH₃)

метиловый эфир бензоил-L-аргинина → бензоил-L-аргинин + метиловый спирт

Вместе с тем установлено, что химотрипсин и другие протеиназы катализируют также перенос остатков аминокислот от одного соединения к другому (см. стр. 327). Все эти факты свидетельствуют о том, что один и тот же фермент может обладать несколькими каталитическими функциями.

Известно, что в сычуге (4-м отделе желудка) теленка содержится так называемый сычужный фермент, вызывающий створаживание молока. Именно благодаря свертывающему действию этого фермента сычуг применяется в качестве створаживающего средства при изготовлении сыров. Сычужный фермент иначе называют еще *химозином*, *лабферментом* или *реннином*. Действие сычужного фермента заключается в том, что он превращает имеющийся в молоке белок казеиноген в сгусток казеината кальция.

Очищенный сычужный фермент чрезвычайно энергично свертывает молоко: при pH 6,2 и температуре 37°C одна его часть вызывает свертывание 4 550 000 частей молока.

Сычужный фермент получен в виде белковых кристаллов (рис. 55). В сычуге химозин присутствует в виде зимогена, из которого под действием слабой кислоты образуется активный фермент.

Протеиназы, содержащиеся в млечном соке и в семенах растений, а также в дрожжах, составляют особую группу ферментов,

типичным представителем которой является *папаин*. Его получают в виде сухого порошка из млечного сока плодов дынного дерева (*Carica papaya*). В настоящее время папаин получен в кристаллическом состоянии (рис. 56). Молекулярный вес папаина равен 27 000.

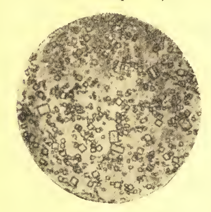


Рис. 55. Кристаллический сычужный фермент (микрофотография)

Оптимальная зона действия этого фермента находится при слабокислой, нейтральной или слабощелочной реакции, в зависимости от природы гидролизуемого белка. Так, например, при действии папаина на денатурированный нагреванием яичный альбумин оптимум находится при pH 7,5, а при действии на желатину—при pH 5,0.

Эти различия зависят от свойств применяемого белкового субстрата. Поэтому для того, чтобы получить наиболее правильное представление о свойствах и условиях действия данной растительной протеиназы, необходимо при ее изучении применять в качестве субстрата белок, свойственный именно данному растению.

Аминокислотный состав кристаллического папаина следующий:

Аминокислота	%	*Аминокислота*	%
Аспарагиновая кислота	11,32	Цистин	4,58
Глютаминовая »	12,43	Пролин	5,11
Гликокол	8,41	Фенилаланин	3,16
Аланин	5,63	Тирозин	14,71
Валин	8,43	Триптофан	4,68
Лейцин	6,10	Гистидин	0,85
Изолейцин	6,05	Лизин	5,67
Серин	5,91	Аргинин	7,75
Треонин	3,89	Аммиак	1,60

Как показали новейшие исследования, молекула папаина состоит из 180 аминокислотных остатков. При этом весьма интересно, что не все эти аминокислотные остатки необходимы для действия фермента. Можно удалить 120 из них, и при этом ферментативная активность папаина сохраняется почти полностью.

Наиболее характерной особенностью папаина, так же как и целого ряда других протеолитических ферментов растительного происхождения, является то, что они активируются синильной

кислотой и сульфгидрильными соединениями, содержащими группу SH. Среди этих последних необходимо прежде всего отметить цистеин и восстановленный глютатион. Сам папаин содержит около 4% серы, которая имеется в нем частично в виде дисульфидной и частично в виде сульфгидрильной серы. Исходя из этого, а также из факта активирования папаина восстановителями, полагают, что

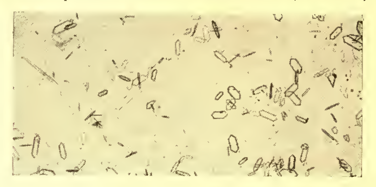


Рис. 56. Кристаллический папаин (микрофотография)

в папаине имеется равновесная система, состоящая из восстановленного и из окисленного фермента:

$$\text{Па—S—S—Па} \underset{+2\text{H}}{\overset{-2\text{H}}{\rightleftarrows}} \text{Па—SH} + \text{HS—Па}.$$

Гидролитически активной формой папаина является именно восстановленная форма. В соответствии с этим окисление папаина и подобных ему ферментов приводит к снижению или полному исчезновению гидролитической активности. Мы уже указывали, что протеиназы, имеющиеся в зерне, принадлежат к ферментам типа папаина, т. е. активируются веществами, содержащими сульфгидрильные группы, и инактивируются окислителями.

Влияние окислителей на протеиназы типа папаина сводится не только к тому, что они угнетают гидролитическое действие фермента, но также проявляется и в том, что активируется синтетическое действие фермента. Таким образом, изменение окислительно-восстановительных условий в клетке приводит к изменению направления ферментативной реакции. По-видимому, особенно важную роль в регулировании окислительно-восстановительных условий в живой клетке, а следовательно, скорости и направления ферментативных реакций, связанных с распадом и образованием белка, играет система окисленного и восстановленного глютатиона.

Однако целый ряд исследований показал, что обратимость действия протеолитических ферментов и их синтезирующая способность зависят не только от окислительно-восстановительных усло-

вий, при которых действует фермент, но также от молекулярной структуры субстратов. Так, например, М. Бергманном показано, что, действуя на смесь аминокислот, обладающих определенными атомными группировками, папаин может легко синтезировать пептиды. При этом весьма важно то обстоятельство, что эти синтезы осуществляются при тех же условиях температуры и кислотности, при которых папаин обладает наиболее энергичным гидролитическим действием. Таким образом, показано, что синтезирующее действие протеолитических ферментов зависит не только от концентрации субстратов, не только от окислительно-восстановительных условий, но также от строения субстратов.

Как мы уже указывали выше, протеиназы зерна и муки принадлежат к ферментам типа папаина. Оптимум их действия находится в зоне pH 4,0—5,5. В непроросшем зерне протеиназы обладают очень слабой активностью. При прорастании их активность резко возрастает, что обусловлено превращением зимогена в активный фермент, а также активирующим действием глютатиона, содержащегося в значительном количестве в зародыше.

В плодах ананаса содержится протеиназа, названная бромелином. Бромелин активируется сульфгидрильными соединениями и цианидом; оптимум его действия находится при pH 6,0—7,0. Протеиназы типа папаина, активируемые восстановителями, найдены в млечном соке *Asclepias* и фигового дерева (*Ficus carica*). Фермент *Asclepias*, названный асклепаином, получен в кристаллическом виде и имеет оптимум pH при 7—7,5. Фермент из млечного сока фигового дерева и других растений, принадлежащих к роду *Ficus*, получил название фицина. Он получен в кристаллическом виде и оптимум его действия находится при pH 7,0.

Наряду с ферментами типа папаина в ряде растений найдены протеиназы, не активируемые цианидами и сульфгидрильными соединениями. К их числу принадлежат соланаин, содержащийся в плодах паслена (оптимум pH 8,5), арахаин из семян арахиса (оптимум pH 6,5—7,5), а также арвенсин из семян гороха (оптимум pH 8,0).

Действие протеолитических ферментов обычно изучают, определяя скорость накопления свободных аминных или карбоксильных групп, освобождающихся в результате разрыва ферментом пептидных связей, имеющихся в белке или полипептиде. Однако было замечено, что очень сильное растворяющее действие протеиназы на белок не всегда сопровождается образованием свободных аминных или карбоксильных групп. На этом основании было высказано предположение о том, что протеолитические ферменты могут расщеплять белки без одновременного освобождения аминных групп. Так, например, А. В. Благовещенский показал, что действие пшеничной или дрожжевой протеиназы проявляется в потере белком способности осаждаться трихлоруксусной кислотой или в сильном понижении вязкости белкового раствора. Этот процесс не сопровождается накоплением свободных аминных или карбоксильных групп. На этом основании А. В. Благовещенский высказал предположение о том, что на первых стадиях действия протеиназы происходит дезаггрегирование белка, сопровождающееся резким из-

менением его физических свойств и являющееся следствием разрыва не пептидных, а каких-то иных связей в молекуле белка. Некоторые исследователи приходят даже к заключению о существовании особых дезаггрегирующих белки ферментов.

Мы уже неоднократно указывали на то, какое большое влияние на действие фермента оказывает молекулярная структура субстрата — его «атакуемость» ферментом.

Различная атакуемость разных белков одной и той же протеиназой установлена с полной определенностью. Так, например, показано, что белки различных сортов пшеницы, резко различающихся по физическим свойствам клейковины, а следовательно и по хлебопекарным качествам, расщепляются папаином с разной скоростью; точно так же различна скорость расщепления глобулинов, содержащихся в семенах разных видов бобовых растений.

Каковы же основные факторы, от которых зависит «атакуемость» белка протеиназой?

Имеется ряд исследований, которые показывают, что скорость расщепления белка протеолитическим ферментом зависит от наличия в белке определенных химических группировок, например, сульфгидрильных, аминных и оксигрупп. Если эти группы в белковой молекуле каким-либо образом ликвидировать, то изменяется «атакуемость» белка ферментом. Так, например, если восстановить дисульфидные группы белка, то скорость его расщепления протеиназами возрастает; если блокировать оксигруппы путем их бензоилирования или ацетилирования, то в результате «атакуемость» белка понижается. Весьма интересным примером повышения расщепляемости белка в организме вследствие его восстановления является переваривание белка шерсти (кератина) личинкой платяной моли. Кератин шерсти не переваривается протеиназами животных. Однако в пищеварительном тракте личинки платяной моли происходит восстановление дисульфидных групп кератина в сульфгидрильные группы, что делает возможным его расщепление протеиназой, содержащейся в пищеварительном тракте личинки.

Таким образом, несомненно, что «атакуемость» белка протеиназами зависит от наличия в его молекуле определенных химических групп. Вместе с тем Д. Л. Талмуд и его сотрудники показали, что «атакуемость» белка протеиназой зависит также от формы белковой глобулы — чем более она приближается к сферической, тем меньшей становится расщепляемость белка ферментом, и наоборот. Согласно этому представлению, причиной уменьшения «атакуемости» молекул белка ферментом является, по-видимому, «экранирование» пептидных связей гидрофильными группами боковых цепей. Если под влиянием тех или иных воздействий происходит растяжение сферической белковой глобулы, то ее поверхность увеличивается пропорционально растяжению. В результате увеличения поверхности все более обнажаются и становятся доступными действию фермента пептидные связи в цепи главных валентностей.

По всей вероятности, «атакуемость» белка зависит как от наличия в его молекуле определенных химических группировок, так и от формы белковой глобулы.

Лиазы

К классу лиаз относится целый ряд ферментов, катализирующих самые разнообразные реакции. Некоторые из этих ферментов катализируют отщепление воды, другие — отщепление углекислого газа или аммиака; фермент альдолаза катализирует расщепление фруктозодифосфата на 2 молекулы фосфотриоз.

Фермент фумаратгидратаза (ранее известная под названием фумараза) катализирует отщепление воды от яблочной кислоты, сопровождающееся образованием фумаровой кислоты:

$$\underset{\text{яблочная кислота}}{HOOC\cdot CH(OH)\cdot CH_2\cdot COOH} \rightleftarrows H_2O + \underset{\text{фумаровая кислота}}{HOOC\cdot CH{=}CH\cdot COOH}.$$

Эта реакция, как видно из приведенного уравнения, является обратимой.

Енолаза катализирует реакцию, играющую весьма важную роль в процессе спиртового брожения — превращение 2-фосфоглицериновой кислоты в фосфоенолпировиноградную кислоту:

$$\underset{\text{2-фосфоглицериновая кислота}}{\begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ CHOPO_3H_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}} \rightleftarrows H_2O + \underset{\text{фосфоенолпировиноградная кислота}}{\begin{matrix} CH_2 \\ \| \\ CO\cdot PO_3H_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}}$$

На отщеплении и присоединении воды основано также действие фермента цитрат(изоцитрат)-гидро-лиазы (ранее известного под названием аконитазы), катализирующего взаимное обратимое превращение лимонной, изолимонной и цис-аконитовой кислот. Это превращение идет следующим образом:

$$\underset{\text{лимонная кислота}}{\begin{matrix} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ HO-C-COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}} \underset{+H_2O}{\overset{-H_2O}{\rightleftarrows}} \underset{\text{цис-аконитовая кислота}}{\begin{matrix} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ C-COOH \\ \| \\ CH \\ | \\ COOH \end{matrix}} \underset{-H_2O}{\overset{+H_2O}{\rightleftarrows}} \underset{\text{изолимонная кислота}}{\begin{matrix} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ H-C-COOH \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ COOH \end{matrix}}$$

Цитрат-гидро-лиаза найдена в целом ряде высших растений и в животном организме. Она играет существенную роль в превращениях органических кислот в растении.

Как мы уже указывали, имеются ферменты, катализирующие отщепление углекислого газа от ряда соединений. Таким ферментом является, например, карбонат-гидро-лиаза (угольная ангидраза), расщепляющая угольную кислоту на углекислый газ и воду:

$$H_2CO_3 \rightleftarrows CO_2 + H_2O.$$

Угольная ангидраза интересна в том отношении, что она является белком, содержащим в своем составе цинк.

Отщепление углекислого газа от пировиноградной кислоты осуществляется под действием пируватдекарбоксилазы — фермента, содержащегося в микроорганизмах и растениях. Как мы уже указывали, пируватдекарбоксилаза расщепляет пировиноградную кислоту на уксусный альдегид и CO_2. Мы уже отмечали также, что активная группа пируватдекарбоксилазы представляет собой витамин B_1 (тиамин), соединенный с двумя остатками фосфорной кислоты.

Декарбоксилированию (т. е. разложению с выделением CO_2) может подвергаться не только пировиноградная кислота, но и более сложные кетокислоты, как, например, щавелевоуксусная кислота, которая под действием оксалоацетат-декарбоксилазы образует пировиноградную кислоту и CO_2:

$$\underset{\text{щавелевоуксусная кислота}}{H\boxed{OOC}\cdot CH_2\cdot CO\cdot COOH} \rightleftarrows \underset{\text{пировиноградная кислота}}{CH_3CO\cdot COOH} + CO_2.$$

Соответствующая β-декарбоксилаза разлагает щавелевоянтарную кислоту на CO_2 и α-кетоглютаровую кислоту:

$$\underset{\text{щавелевоянтарная кислота}}{\begin{matrix} COOH \\ | \\ CO \\ | \\ CH\cdot\boxed{COOH} \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}} \rightleftarrows CO_2 + \underset{\text{α-кетоглютаровая кислота}}{\begin{matrix} COOH \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}}$$

Весьма существенным является то обстоятельство, что в отличие от пируватдекарбоксилазы, расщепляющей пировиноградную кислоту, действие декарбоксилаз, разлагающих щавелевоуксусную и щавелевоянтарную кислоты, является обратимым. Таким образом, эти ферменты катализируют весьма важную в обмене ве-

ществ реакцию удлинения углеродной цепи за счет присоединения CO_2.

Ферментативному декарбоксилированию могут также подвергаться аминокислоты. Эта реакция катализируется декарбоксилазами аминокислот и протекает в соответствии с уравнением:

$$R \cdot CH(NH_2) \cdot COOH \rightarrow R \cdot CH_2 \cdot NH_2 + CO_2.$$

Как видно из этого уравнения, в результате реакции наряду с CO_2 образуется также соответствующий амин. Так, например, при декарбоксилировании лизина под действием лизиндекарбоксилазы образуется пентаметилендиамин, чаще называемый кадаверином:

$$\begin{array}{c} NH_2 \\ | \\ (CH_2)_4 \\ | \\ CH \cdot NH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{лизин} \end{array} \rightarrow CO_2 + \begin{array}{c} NH_2 \\ | \\ (CH_2)_4 \\ | \\ CH_2 \cdot NH_2 \\ \text{кадаверин} \end{array}$$

Точно так же при декарбоксилировании орнитина образуется тетраметилендиамин, иначе называемый путресцином; тирозин дает соответствующий амин — тирамин, из гистидина образуется гистамин, который в ничтожных концентрациях сильно расширяет кровеносные сосуды.

$$\begin{array}{c} NH_2 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH \cdot NH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{орнитин} \end{array} \rightarrow CO_2 + \begin{array}{c} NH_2 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH_2NH_2 \\ \text{путресцин} \end{array}$$

$$\begin{array}{c} CH_2 \cdot CH(NH_2)—COOH \\ | \\ C \\ HC \diagup \quad \diagdown CH \\ | \qquad \| \\ HC \diagdown \quad \diagup CH \\ C \\ | \\ OH \\ \text{тирозин} \end{array} \longrightarrow CO_2 + \begin{array}{c} CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2 \\ | \\ C \\ HC \diagup \quad \diagdown CH \\ | \qquad | \\ HC \diagdown \quad \diagup CH \\ C \\ | \\ OH \\ \text{терамин} \end{array}$$

$$HC{=}C\cdot CH_2\cdot CH\cdot NH_2{-}COOH \longrightarrow HC{=}C\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot NH_2 + CO_2$$

(кольцо: HC=C — HN, N — CH)

гистидин → гистамин

Декарбоксилазы аминокислот найдены в растениях, животных и микроорганизмах. Они содержатся в особенно большом количестве в бактериях, вызывающих гниение белковых веществ. Образующиеся при этом кадаверин, путресцин, тирамин и другие амины являются физиологически весьма активными веществами. Активная группа декарбоксилаз аминокислот представляет собой пиридоксальфосфат, т. е. соединенное с фосфорной кислотой производное витамина B_6.

К группе лиаз принадлежит и аспартат — аммиак-лиаза (ранее аспартаза), найденная у некоторых микробов и в высших растениях. Она катализирует отщепление и присоединение аммиака в следующей реакции:

$$\underset{\text{фумаровая кислота}}{HOOC\cdot CH{=}CH\cdot COOH} + NH_3 \rightleftarrows \underset{\text{аспарагиновая кислота}}{HOOC\cdot CHNH_2\cdot CH_2\cdot COOH}.$$

Наконец, к этой же группе ферментов должна быть отнесена *альдолаза*, играющая важную роль в процессе дыхания и спиртового брожения. Она катализирует распад фруктозодифосфата на фосфодиоксиацетон и фосфоглицериновый альдегид:

Ⓟ·O·CH₂ … O … CH₂OⓅ; C, H; HO, C, OH; H, C—C; OH, H

фруктофураноза-1,6-дифосфат ⇄ $CH_2\cdot O\cdot$Ⓟ / CO / CH_2OH (*фосфодиоксиацетон*) + CH_2OⓅ / CHOH / CHO (*3-фосфоглицериновый альдегид*)

У некоторых бактерий, плесневых грибов и в высших растениях (например, в проростках тыквы и клещевины) найден фермент изоцитрат-лиаза. Изоцитрат-лиаза катализирует расщепление изолимонной кислоты на янтарную и глиоксилевую кислоты:

$$\underset{\text{изолимонная кислота}}{\begin{array}{l}COOH\\ |\\ CH\cdot CH(OH)\cdot COOH\\ |\\ CH_2\\ |\\ COOH\end{array}} \rightleftarrows \underset{\text{янтарная кислота}}{\begin{array}{l}COOH\\ |\\ CH_2\\ |\\ CH_2\\ |\\ COOH\end{array}} + \underset{\text{глиоксилевая кислота}}{\begin{array}{c}O\\ \|\\ HC\cdot COOH\end{array}}$$

Изоцитрат-лиаза играет важную роль в процессе превращения жиров в углеводы, происходящем при прорастании масличных семян (см. стр. 458).

Оксидоредуктазы
(окислительно-восстановительные ферменты)

К этому классу относится целый ряд самых разнообразных ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции, происходящие в живом организме. Среди этих ферментов прежде всего нужно назвать дегидрогеназы, катализирующие реакцию дегидрирования, т. е. отнятия водорода от данного органического соединения.

Реакция дегидрирования может быть схематически изображена следующим образом:

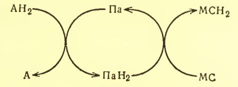
$$AH_2 + B \rightleftarrows A + BH_2.$$

Вещество AH_2, отдающее свой водород, называется донатором водорода, а вещество B, отнимающее водород от донатора, носит название акцептора водорода.

Таким образом, одновременно происходит окисление вещества A и восстановление вещества B, т. е. окислительно-восстановительная реакция.

Приведенное выше уравнение не отражает того факта, что в этой окислительно-восстановительной реакции участвует также катализатор, являющийся промежуточным переносчиком водорода. При опытах с растворами различных органических соединений таким катализатором может служить, например, коллоидальный палладий, который отнимает водород от окисляемого вещества (донатора) и передает его какому-либо акцептору, например метиленовой сини (МС); эта последняя при этом переходит в восстановленную, бесцветную форму (так называемую лейкоформу).

Ход реакции и участие в ней промежуточного переносчика водорода, в данном случае палладия, можно наглядно выразить следующей схемой:



В живых клетках роль промежуточных переносчиков водорода выполняют различные дегидрогеназы. Обычно для изучения их действия пользуются вытяжкой из исследуемой ткани и метиленовой синью в качестве акцептора водорода. Содержащаяся в вытяжке дегидрогеназа отнимает водород от окисляемого субстрата и

отдает его затем метиленовой сини, которая при этом превращается в лейкоформу. Таким образом, по обесцвечиванию раствора можно судить о действии дегидрогеназы. Поскольку лейкоформа метиленовой сини легко окисляется кислородом воздуха, причем раствор снова окрашивается, опыт ведут в специальной пробирке, из которой выкачивают воздух.

В настоящее время установлено существование многих специфических дегидрогеназ, дегидрирующих только лишь определенные субстраты.

В зависимости от химической природы окисляемого субстрата дегидрогеназы носят соответствующее название. Так, например, фермент, дегидрирующий этиловый спирт, называется алкогольдегидрогеназой, яблочную кислоту — малатдегидрогеназой, изолимонную кислоту — изоцитратдегидрогеназой и т. д.

Все известные дегидрогеназы разделяются на две большие группы:

1) анаэробные дегидрогеназы, которые не могут отдавать водород кислороду воздуха, а передают его другим акцепторам, например другим дегидрогеназам или же хиноноподобным соединениям;

2) аэробные дегидрогеназы, которые могут передавать отнятый от окисляемого субстрата водород непосредственно кислороду воздуха.

Анаэробные дегидрогеназы

Что же представляют собой по своей химической природе анаэробные дегидрогеназы? Прежде всего необходимо отметить, что они являются двухкомпонентными ферментами, активная группа которых в большинстве случаев содержит витамин PP (амид никотиновой кислоты). Таким образом, в данном случае мы имеем еще один пример того, как витамин, соединяясь с белком, дает качественно новую систему — фермент.

Анаэробные дегидрогеназы легко диссоциируют при диализе, распадаясь при этом на белок и активную группу — кофермент.

Коферментом (активной группой) ряда анаэробных дегидрогеназ является дифосфопиридиннуклеотид (сокращенно ДПН). Международная комиссия по номенклатуре ферментов предложила сокращенно называть дифосфопиридиннуклеотид НАД, что соответствует рациональному химическому названию этого соединения (никотинамидадениндинуклеотид). Он является исключительно реакционноспособной окислительно-восстановительной системой, играющей важную роль в процессе спиртового и молочнокислого брожения, а также в процессе дыхания. Строение восстановленной формы дифосфопиридиннуклеотида (или $НАД \cdot H_2$) представлено на стр. 304. НАД, вступая в соединение с тем или иным специфическим белком, образует ту или иную анаэробную дегидрогеназу, обладающую способностью отнимать водород непосредственно от

ряда органических соединений, например от фосфорноглицеринового альдегида. В результате происходит окисление данного соединения, например, глюкозы в глюконовую кислоту или фосфоглицеринового альдегида в фосфоглицериновую кислоту. При этом НАД превращается в свою восстановленную форму—НАД·H_2.

$\xrightarrow[-2H]{+2H}$

НАД НАД · H_2

Соединенный со специфическим белком, НАД · H_2 обладает значительным восстановительным потенциалом. Он может передать свой водород уксусному альдегиду, образующемуся в качестве промежуточного продукта при спиртовом брожении или анаэробном (интрамолекулярном) дыхании высших растений. При этом ацетальдегид восстанавливается до этилового спирта, а НАД·H_2 снова превращается в НАД. В процессе превращения углеводов при молочнокислом брожении ацетальдегид не образуется, и НАД·H_2 осуществляет восстановление пировиноградной кислоты.

В результате этой реакции получается молочная кислота и регенерируется НАД.

Так обстоит дело при молочнокислом или спиртовом брожении и анаэробном дыхании растений. Если же происходит обычное аэробное дыхание, то содержащая НАД дегидрогеназа, отняв водород у фосфоглицеринового альдегида или какого-либо другого субстра-

та, передает его флавиновому ферменту, либо какому-нибудь другому промежуточному переносчику водорода.

Для того чтобы дать представление о составе белкового компонента анаэробной дегидрогеназы, мы приводим ниже аминокислотный состав дрожжевой алкогольдегидрогеназы (в граммах на 100 г белка), имеющей молекулярный вес 150000:

Аланин	6,6
Аргинин	4,9
Аспарагиновая кислота	8,6
Цистин 1/2	4,4
Глютаминовая кислота	6,6
Глицин	5,9
Гистидин	2,5
Изолейцин	7,0
Лейцин	7,1
Лизин	7,8
Метионин	5,1
Фенилаланин	5,7
Пролин	4,8
Серин	5,8
Треонин	6,6
Триптофан	1,7
Тирозин	6,0
Валин	6,9

Коферментом других анаэробных дегидрогеназ является трифосфопиридиннуклеотид, состоящий из соединенных между собой остатков 2 молекул пентозы, 3 молекул фосфорной кислоты, 1 молекулы аденина и 1 молекулы амида никотиновой кислоты. Строение трифосфопиридиннуклеотида показано на стр. 306.

Трифосфопиридиннуклеотид (сокращенно ТПН) был открыт О. Варбургом. Международная комиссия по номенклатуре ферментов предложила сокращенно называть трифосфопиридиннуклеотид НАДФ, что соответствует химическому названию этого соединения—никотинамидадениндинуклеотидфосфат. Отнимая водород от какого-либо окисляемого им субстрата, НАДФ так же, как и НАД, превращается в дигидропиридиновое производное (ТПН·Н или НАДФ·H_2), которое отдает затем свой водород флавиновому ферменту. Таким образом, дигидропроизводные описанных выше пиридиннуклеотидов являются специфическими субстратами, на которые действуют флавиновые ферменты.

Однако необходимо подчеркнуть, что некоторые пиридиновые дегидрогеназы передают отнятый ими от окисляемого субстрата водород не флавиновым ферментам, а «дыхательным пигментам»,

образующимся под действием полифенолоксидазы, или же цитохромной системе.

Трифосфопиридиннуклеотид обнаружен в различных листьях, в клубнях картофеля. В листьях его содержание составляет от 10 до 40 *мкг* на 1 *г* сухого веса.

трифосфопиридиннуклеотид (НАДФ)

Таким образом, из всего изложенного выше ясно, что пиридиновые ферменты, отнимающие водород от окисляемого субстрата и передающие его затем флавиновым ферментам, дыхательным пигментам или цитохромной системе, правильно называют первичными дегидрогеназами.

Первичные дегидрогеназы, содержащие в качестве активных групп дифосфо- или трифосфопиридиннуклеотид, окисляют (дегидрируют) самые разнообразные субстраты: молочную, яблочную, изолимонную и глютаминовую кислоты, гексозомонофосфат, глюкозу, различные альдегиды и спирты. Специфичность действия анаэробных дегидрогеназ зависит от особенностей белка, с которым связан данный пиридиновый кофермент.

В тканях высших растений и микроорганизмов окисленные и восстановленные формы никотинамидадениннуклеотида и никотинамидадениннуклеотидфосфата находятся в состоянии динамического равновесия и могут взаимно превращаться друг в друга благодаря ферменту НАД (Ф)-трансгидрогеназе, который катализирует реакцию

$$\text{НАДФ}\cdot H_2 + \text{НАД} \rightleftarrows \text{НАДФ} + \text{НАД}\cdot H_2$$

Аэробные дегидрогеназы

К аэробным дегидрогеназам, передающим водород, отнятый от окисляемого субстрата или от восстановленной формы анаэробной дегидрогеназы, кислороду воздуха или метиленовой сини, принад-

лежат прежде всего ферменты, в состав активной группы которых входит рибофлавин (витамин B_2). Эти ферменты иначе называют флавопротеидами. Таким образом, флавопротеидные дегидрогеназы, так же как и анаэробные дегидрогеназы, являются прекрасным примером каталитической функции витаминов: соединяясь с белком, витамин образует качественно новую систему — фермент. Способность флавиновых ферментов отнимать водород от окисляемого вещества и передавать его другим соединениям или непосредственно кислороду связана с тем, что их активная группа легко подвергается обратимому окислению и восстановлению в соответствии со следующим уравнением:

В то время как флавин окрашен в желтый цвет, его восстановленная форма — лейкофлавин, так же как и восстановленная форма метиленовой сини, является бесцветным соединением. Поскольку гетероциклическое соединение, входящее в состав рибофлавина, представляет собой азотистое основание (диметилизоаллоксазин), активную группу флавиновых ферментов можно рассматривать как мононуклеотид, с той разницей, что в нем содержится не остаток пентозы, как в обычных нуклеотидах, а остаток соответствующего спирта D-рибита.

Однако, несмотря на это отличие, все же изображенную выше активную группу флавиновых ферментов называют обычно флавинмононуклеотидом (сокращенно ФМН).

Наиболее известным и хорошо изученным ферментом флавопротеидной природы является исследованный О. Варбургом и Г. Теореллем так называемый *желтый дыхательный фермент*. Он участвует в окислении ряда соединений, играющих важную роль в обмене веществ, например гексозомонофосфата. При этом от гексозомонофосфата водород отнимает анаэробная дегидрогеназа, которая затем передает этот водород желтому ферменту, а этот последний отдает его далее кислороду воздуха. Таким образом, окисление гексозомонофосфата в фосфоглюконовую кислоту осуществляется ферментативной системой, состоящей из анаэробной дегидрогеназы и флавинового желтого фермента. Этот процесс, при котором водород передается от окисляемого субстрата одному, а затем другому ферменту и, наконец, реагирует с кислородом воздуха, являет-

ся типичным примером ступенчатой ферментативной реакции. Он может быть изображен следующей схемой:

гексозомоно-фосфат → 6-фосфоглюконовая кислота
анаэробная дегидрогеназа → анаэробная дегидрогеназа · H_2
желтый фермент · H_2 → желтый фермент
O_2 → H_2O_2

Таким образом, желтый дыхательный фермент представляет собой дегидрогеназу, специфическим субстратом которой является восстановленная форма анаэробной дегидрогеназы.

Имеются флавиновые ферменты, простетическая группа которых представляет собой аденинфлавиндинуклеотид, имеющий следующую структуру:

остаток D-рибита

остаток диметилизоаллоксазина

остаток рибофуранозы

остаток аденина

Флавинадениндинуклеотид (сокращенно ФАД) найден в листьях и клубнях растений.

В ряде растений найдены также ферменты, катализирующие при участии АТФ синтез флавиндинуклеотида из флавинмононуклеотида.

Флавинадениндинуклеотид является активной группой фермента, катализирующего окисление аминокислот, а также фермента, называемого ксантиноксидазой. *Ксантиноксидаза* катализирует окисление пуриновых оснований — ксантина и гипоксантина до мочевой кислоты. Ксантиноксидаза может передавать водород, отнятый ею от гипоксантина или ксантина как кислороду воздуха, так и метиленовой сини. Ксантиноксидаза содержится в молоке, а также в тканях растений и животных. Она катализирует окисление гипоксантина в ксантин и далее окисление этого последнего в мочевую кислоту (см. ниже). Для действия ксантиноксидазы необходим молибден.

Нужно отметить, что ксантиноксидаза обладает еще второй функцией — она катализирует окисление различных альдегидов.

гипоксантин $\xrightarrow{+H_2O}$ гипоксантингидрат $+ O_2 \xrightarrow{\text{ксантиноксидаза}}$

$\longrightarrow$ ксантин $+ H_2O_2$

ксантин $+ H_2O \longrightarrow$ ксантнигидрат $+ O_2 \xrightarrow{\text{ксантиноксидаза}}$

$\longrightarrow$ мочевая кислота $+ H_2O_2$

Восстановленные формы флавиновых ферментов могут передавать свой водород не только кислороду воздуха или метиленовой сини, но также полифенолоксидазной или цитохромной системам, которые описаны ниже.

Оксидазы

Аэробные дегидрогеназы, для которых акцептором водорода может служить исключительно лишь кислород воздуха, называются **оксидазами**. Отнимая водород от окисляемого субстрата и передавая его затем кислороду воздуха, оксидаза может образовать при этом воду или перекись водорода. Соответствующие схемы действия оксидазы имеют следующий вид:

$$AH_2 + \frac{1}{2}O_2 \xrightarrow{\text{оксидаза}} A + H_2O \qquad AH_2 + O_2 \xrightarrow{\text{оксидаза}} A + H_2O_2$$

оксидаза *оксидаза*

Среди оксидаз необходимо рассмотреть прежде всего *монофенолоксидазу*. Этот фермент содержится в грибах и окисляет монофенолы в соответствии со следующим уравнением:

$$\begin{array}{c} CH \\ HC \quad CH \\ \| \quad\;\; | \\ HC \quad CH \\ C \\ | \\ OH \end{array} + O_2 \xrightarrow{\text{монофенол-оксидаза}} \begin{array}{c} CH \\ HC \quad CH \\ \| \quad\;\; | \\ HC \quad C{=}O \\ C \\ \| \\ O \end{array} + H_2O$$

В соответствии с природой окисляемого субстрата монофенолоксидазой можно назвать также фермент *тирозиназу*, окисляющий тирозин с образованием темноокрашенных соединений, называемых *меланинами*. Однако ферментативное окисление тирозина представляет собой сложный процесс, детали которого еще окончательно не выяснены.

Активная тирозиназа содержится в грибах и в ржаной муке.

Темный цвет ржаного хлеба, по-видимому, частично объясняется именно действием тирозиназы. Той же причиной объясняется наблюдающееся иногда потемнение макарон в процессе их сушки — некоторые партии пшеничной муки содержат весьма активную тирозиназу.

Исследования последних лет показали, что не существует особых ферментов монофенолоксидазы и тирозиназы, а окисление монофенолов и тирозина катализируется ферментом полифенолоксидазой (катехолоксидазой).

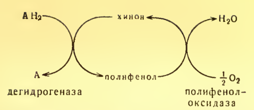
В зависимости от происхождения и способа получения ферментного препарата способность катализировать окисление монофенолов (в том числе тирозина) и полифенолов может быть выражена в разной степени.

Полифенолоксидаза содержится в грибах и высших растениях. Молекулярный вес полифенолоксидазы грибов равен 34 500. Этот фермент представляет собой содержащий медь белок (содержание меди 0,2%). Примером катализируемой им реакции окисления полифенола может служить окисление пирокахетина в соответствующий хинон:

```
      OH                                               O
      |                                                ‖
      C                                                C
    ⁄   ⫽                                            ⁄   \
  HC     C—OH                                      HC     C=O
  ‖      |        + 1/2 O2  ——полифенол-——→         ‖      |       +H2O
  HC     CH                  оксидаза              HC     CH
    \   ⫽                                            \   ⫽
      CH                                               CH
```

Полифенолоксидаза окисляет также трифенолы, например пирогаллол. Именно действием полифенолоксидазы объясняется потемнение поверхности разрезанного яблока или картофельного клубня. Полифенолоксидаза участвует в окислении полифенолов и дубильных веществ, происходящем при скручивании и завяливании чайного листа; ее действием объясняется также потемнение плодов и овощей при сушке и почернение на воздухе млечного сока так называемого китайского лакового дерева.

Полифенолоксидаза играет важнейшую роль в дыхании растений. Согласно теории, разработанной крупнейшим биохимиком и физиологом — академиком В. И. Палладиным, система «полифенол$\rightleftarrows$хинон» играет весьма важную роль в качестве промежуточного звена при окислении различных органических соединений, происходящем в процессе дыхания растений. Участие полифенолоксидазы в этом процессе может быть представлено следующей схемой:



Согласно этой схеме, водород, отнятый дегидрогеназой у какого-то окисляющегося органического соединения AH_2, передается ею хинону, образовавшемуся из полифенола в результате действия полифенолоксидазы. Восстановление хинона этим водородом снова приводит к образованию полифенола, который вновь подвергается окислению кислородом воздуха под действием полифенолоксидазы. Таким образом, небольшое количество полифенола и соответствующего хинона может многократно подвергаться попеременному окислению и восстановлению, являясь связующим звеном между отнимаемым от субстрата водородом и кислородом воздуха. В. И. Палладин назвал содержащиеся в растениях полифенолы, участвующие в процессе дыхания, дыхательными *хромогенами*, а образующиеся при их окислении соответствующие хиноны — *дыхательными пигментами*. Одним из таких дыхательных хромогенов, играющих важную роль в дыхании растений, является упоминавшаяся нами ранее хлорогеновая кислота.



Палладин
Владимир Иванович
(1859—1922)

Система полифенолоксидазы, полифенолов и соответствующих хинонов может окислять аскорбиновую кислоту с образованием дегидроаскорбиновой кислоты. Таким образом, происходящее под действием полифенолоксидазы взаимное превращение дыхательных хромогенов и дыхательных пигментов самым тесным образом связано с окислительно-восстановительными превращениями такого широко распространенного в растениях соединения, как аскорбиновая кислота. Однако в растениях имеется особая оксидаза, которая осуществляет превращение аскорбиновой кислоты в деги-

дроаскорбиновую. Этот фермент получил название *аскорбатоксидаза* и также представляет собой содержащий медь белок (содержание меди 0,24%). Он катализирует следующую реакцию:

$$\text{аскорбиновая кислота} + \frac{1}{2}O_2 \xrightarrow{\text{аскорбатоксидаза}} \text{дегидроаскорбиновая кислота} + H_2O$$

аскорбиновая кислота: CH_2OH, $HCOH$, C, H, O, $C{=}O$, $C{=}C$, HO, OH

дегидроаскорбиновая кислота: CH_2OH, $HCOH$, C, H, O, $C{=}O$, $C{-}C$, O, O

Особенно активная аскорбатоксидаза содержится в тыкве, капусте и кабачках.

К группе оксидаз принадлежит также фермент *уратоксидаза* или, иначе, *уриказа*. Этот фермент окисляет в аллантоин мочевую кислоту, образующуюся из пуриновых оснований под действием ксантиноксидазы. Суммарное уравнение, выражающее реакцию окисления мочевой кислоты уриказой, имеет следующий вид:

$$\text{мочевая кислота} + 2H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{уриказа}} \text{аллантоин} + CO_2 + H_2O_2$$

мочевая кислота: O, H, C, N, HN, C, CO, OC, C, N, N, H, H

аллантоин: H, N, H_2N, CO, CO, OC, CH, N, N, H, H

Уриказа содержится как в животных, так и в растительных тканях. Так же, как полифенолоксидаза и аскорбатоксидаза, уриказа является медьпротеидом.

Весьма активной оксидазой, содержащейся в растениях, является открытая П. А. Колесниковым оксидаза гликолевой кислоты (*гликолатоксидаза*) (рис. 57). Этот фермент катализирует окисление гликолевой кислоты кислородом воздуха в соответствии с уравнением:

$$HO \cdot CH_2 \cdot COOH + O_2 \rightarrow HOC \cdot COOH + H_2O_2.$$

Образующаяся перекись водорода разлагается затем каталазой на воду и кислород. Таким образом, суммарное уравнение действия оксидазы гликолевой кислоты следующее:

$$\text{гликолевая кислота} + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow \text{глиоксилевая кислота} + H_2O.$$

Действие оксидазы гликолевой кислоты не угнетается цианидом и другими специфическими ингибиторами содержащих металлы окислительных ферментов. Как показало исследование кристаллического препарата оксидазы гликолевой кислоты, простетической группой этого фермента является флавинмононуклеотид.

Цитохромная система

Как мы уже указывали ранее, лишь немногие дегидрогеназы способны передавать водород, отнятый ими у окисляемого субстрата или у восстановленной дегидрогеназы, непосредственно кислороду воздуха. Роль промежуточного звена между восстановленными пиридиновыми или флавиновыми дегидрогеназами, с одной стороны, и кислородом воздуха, с другой, играют либо полифенолоксидаза, либо **цитохромная система**. Последняя была найдена Д. Кейлиным во всех организмах, за исключением облигатно-анаэробных бактерий, т. е. таких, для которых кислород является ядом. Однако недавно М. Исимото нашел цитохромную систему также у некоторых облигатно-анаэробных бактерий.

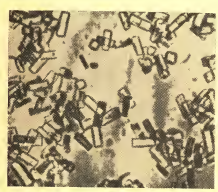


Рис. 57. Кристаллическая оксидаза гликолевой кислоты из листьев шпината (увеличено в 480 раз)

Цитохромная система состоит из цитохромов, а также фермента цитохромоксидазы, активирующего молекулярный кислород и окисляющего с его помощью восстановленный цитохром.

Установлено, что в растениях имеется ряд цитохромов, различающихся по спектрам поглощения, по сродству к молекулярному кислороду и обозначаемых как цитохром a, цитохром b, цитохром c, цитохром c_1, цитохром f, цитохром b_6, b_3, b_7, a_3. Некоторые из них могут быть получены в кристаллическом состоянии (рис. 58).

Цитохромы представляют собой протеиды, простетическая груп-

па которых является гематином, близким по своим свойствам и строению к простетической группе гемоглобина крови и каталазы (см. стр. 319).

Белковые компоненты цитохромов представляют собою полипептиды. Как это показано на рис. 59, связь гематина с полипептидом осуществляется через серу двух остатков цистеина, содержащихся в полипептиде, а также с помощью дополнительной связи между атомом железа и ядром гистидина.



Рис. 58. Кристаллический цитохром *c* из пшеничных зародышей (восстановленная форма; увеличено в 200 раз)

Представление об аминокислотном составе полипептидной части цитохромов дают нижеследующие данные, полученные при анализе цитохрома *c* из дрожжей, обладающего молекулярным весом 13200:

Аминокислоты в граммах на 100 г белка

Аланин	4,5
Амиды	1,6
Аргинин	3,7
Аспарагиновая кислота	11,0
Цистин (1/2)	1,8
Глютаминовая кислота	10,0
Глицин	5,8
Гистидин	4,0
Изолейцин	3,8
Лейцин	6,8
Лизин	16,6
Метионин	2,1
Фенилаланин	4,4
Пролин	3,6
Серин	3,3
Треонин	7,2
Триптофан	1,6
Тирозин	5,7
Валин	2,6

Цитохромы существуют в окисленной и восстановленной формах, легко превращающихся друг в друга. При этих превращениях меняется валентность содержащегося в цитохромах железа — при окислении оно переходит из закисной формы в окисную.

--- Фен—Лиз—Тр—Арг—Цис—Глю—Лей—Цис—Гис—Тр—Вал—Глю ---

S S

$CH—CH_3$ $CH \cdot CH_3$

Fe

Рис. 59. Схема строения цитохрома *c* из дрожжей:

обозначения аминокислотных остатков: Вал—валин, Глю—глютаминовая кислота, Лиз — лизин, Цис — цистеин, Гис — гистидин, Тр — треонин, Лей — лейцин, Арг — аргинин, Фен — фенилаланин

Роль цитохрома в живой клетке состоит в том, что его окисленная форма отнимает электрон от водородного атома, отнятого дегидрогеназой от окисляемого субстрата и содержащегося в дигидроформе пиридиновой или флавиновой дегидрогеназы. В результате эти водородные атомы превращаются в ионы водорода H^+, а цитохром из окисленной формы переходит в восстановленную, причем содержащееся в нем железо из трехвалентного превращается в двухвалентное. В дальнейшем отнятый от водородного атома электрон передается атому кислорода, который при этом приобретает способность реагировать с ионизированными водородными атомами, образуя воду. Таким образом, цитохром не является акцептором водородных атомов от дигидроформы пиридиновых или флавиновых дегидрогеназ, а является акцептором и переносчиком электронов.

Окисление восстановленных цитохромов, как мы отметили выше, осуществляется ферментом цитохромоксидазой. Этот фермент является цитохромом a_3, т. е. представляет собой протеид, содержащий гематин в качестве простетической группы. Цитохромоксидаза очень легко окисляется молекулярным кислородом. Действие цитохромоксидазы угнетается синильной кислотой и окисью углерода. Эти вещества, связываясь с железом фермента, лишают его каталитической активности, вследствие чего фермент теряет свою активность, и у многих клеток дыхание угнетается на 80—90%. Окись углерода является ядом для цитохромоксидазы лишь в тем-

ноте. Это объясняется тем, что соединение окиси углерода с железом легко разлагается на свету.

Таким образом, роль цитохромной системы в дыхании клеток и тканей может быть представлена в виде следующей схемы:

AH_2 — окисленный цитохром — H_2O

A — восстановленный цитохром — $\frac{1}{2}O_2$

пиридиновые или флавиновые дегидрогеназы

цитохромоксидаза

Однако необходимо всегда помнить, что в растениях наряду с цитохромной системой имеется полифенолоксидаза и соответсвующие дыхательные пигменты, которые также могут играть роль промежуточного звена между пиридиновыми или флавиновыми дегидрогеназами и кислородом воздуха (см. схему на стр. 312).

В заключение нужно отметить, что цитохромная система участвует не только в процессе дыхания, но также в процессе фотосинтеза, а возможно, и в процессе хемосинтеза.

Пероксидаза

Ранее мы уже отмечали, что в результате действия некоторых оксидаз образуется перекись водорода. Она может играть роль окислителя. Окисление органических соединений перекисью водорода происходит в организме под действием фермента, получившего название *пероксидазы*. Пероксидаза может окислять те или иные соединения с помощью перекиси водорода или каких-либо органических перекисей. Пероксидаза образует с перекисью водорода комплексное соединение, в результате чего перекись активируется и приобретает способность действовать как акцептор водорода.

Пероксидаза окисляет полифенолы и некоторые ароматические амины. Согласно перекисной теории биологического окисления, разработанной академиком А. Н. Бахом, пероксидаза играет важнейшую роль в окислительных процессах, происходящих в организме. Как мы уже указали выше, она способна производить окисление не только с помощью перекиси водорода, но и с помощью различных органических перекисей.

Бах указал, что целый ряд органических соединений, реагируя с кислородом воздуха, образуют перекиси. Так, например, при окислении полифенола кислородом воздуха образующийся хинон может существовать как в хиноидной, так и в перекисной форме:

хиноидная форма перекисная форма

Особенно легко перекиси образуются при окислении кислородом воздуха соединений, имеющих непредельные связи между двумя атомами углерода. Такими соединениями являются терпены, каротиноиды, ненасыщенные жирные кислоты. Перекиси этих соединений под действием пероксидазы окисляют полифенолы. Так, например, перекись каротина в присутствии пероксидазы легко окисляет пирогаллол.

Пероксидаза так же, как и каталаза, представляет собой двухкомпонентный фермент, активная группа которого содержит трехвалентное железо, соединенное с остатками четырех пиррольных колец в виде гематина. Гематин пероксидазы и каталазы имеет одно и то же строение, представленное на стр. 319. Таким образом, ясно, что различия в каталитической функции каталазы и пероксидазы объясняются различиями в свойствах белков, связанных в этих ферментах с одной и той же активной группой.

Поскольку пероксидаза особенно легко окисляет полифенолы, она играет важную роль в дыхании растений, так как наряду с полифенолоксидазой может катализировать окисление дыхательных хромогенов В. И. Палладина в дыхательные пигменты. Действительно, особенно активная пероксидаза содержится в растениях. Обычно препараты пероксидазы получают из корней хрена. Пероксидаза хрена имеет молекулярный вес, равный 44 100.

В дрожжах найдена цитохромпероксидаза. В отличие от обычной пероксидазы, она специфически окисляет с помощью перекиси водорода только лишь восстановленную форму цитохрома; мы уже указывали, что при этом железо цитохрома становится трехвалентным, цитохром превращается в окисленную форму, а перекись водорода дает воду.

Каталаза

К классу оксидоредуктаз относится также фермент каталаза, под действием которой происходит чрезвычайно интенсивное разложение перекиси водорода на воду и молекулярный кислород:

$$2\,H_2O_2 \rightarrow 2\,H_2O + O_2.$$

Каталаза является двухкомпонентным ферментом, состоящим из белка и соединенной с ним активной группы. Эта последняя содержит гематин, представляющий собою окисленную простетическую группу гемоглобина крови. Строение гематина представлено ниже:

Активная группа каталазы связывается с белком своими двумя карбоксилами. Она тождественна с простетической группой важного окислительного фермента — пероксидазы. Каталаза отравляется синильной кислотой, сероводородом, фторидами. Роль каталазы в организме заключается в том, что она разрушает ядовитую для клеток перекись водорода, образующуюся в процессе дыхания.

Липоксигеназа (липоксидаза)

В растениях широко распространен фермент липоксигеназа, катализирующий окисление кислородом воздуха некоторых ненасыщенных высокомолекулярных жирных кислот и образуемых ими сложных эфиров.

Липоксигеназа представляет собою глобулин, не содержащий железа или меди. Липоксигеназа получена в виде белковых кристаллов. Кристаллическая липоксигеназа имеет следующий аминокислотный состав:

Аминокислота	%	*Аминокислота*	%
Аланин	+	Лизин	7,8
Аргинин	4,7	Метионин	1,8
Аспарагиновая кислота	6,2	Фенилаланин	4,9
Цистин	0	Пролин	5,1
Глютаминовая кислота	10,4	Серин	+
Гликокол	6,3	Треонин	8,9
Гистидин	3,6	Триптофан	0,4
Изолейцин	8,1	Тирозин	6,2
Лейцин	11,4	Валин	7,8

Наиболее активна липоксигеназа в семенах сои; семена и листья других бобовых культур и злаков содержат значительно менее активный фермент. Оптимум действия липоксигеназы сои находится при pH 9,0, а липоксигеназы злаков — при pH 7,0.

Из всех ненасыщенных жирных кислот липоксигеназа окисляет с достаточной скоростью лишь линолевую и линоленовую кислоты. Олеиновая кислота окисляется медленнее.

Окисление ненасыщенных жирных кислот под действием липоксигеназы приводит к образованию гидроперекисей:

$$R\ldots\ldots-CH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2-\ldots\ldots COOH$$

$$\big\downarrow +O_2$$

$$R\ldots\ldots-CH_2CH{=}CHCH{=}CHCH(OOH)CH_2-\ldots\ldots COOH$$

Образующиеся таким образом гидроперекиси, обладая весьма высокой окислительной способностью, могут окислять далее новые порции ненасыщенных жирных кислот, а также каротиноиды, витамин А, аминокислоты, хлорофилл, аскорбиновую кислоту. Поскольку липоксигеназа катализирует вторичное окисление каротиноидов, сопровождающееся исчезновением характерной для них желтой окраски, делались попытки применить липоксигеназу в качестве препарата, отбеливающего тесто и придающего мякишу хлеба более светлую окраску.

Липоксигеназа играет важную роль при разрушении каротина во время сушки и хранения различных растительных продуктов. Вместе с тем, поскольку перекиси жирных кислот могут легко подвергаться дальнейшему распаду, липоксигеназа играет, по-видимому, существенную роль в процессе прогоркания таких продуктов, как мука и различные крупы.

Несомненно, что липоксигеназа играет какую-то важную роль в обмене веществ растительного организма. Однако данные по этому вопросу почти отсутствуют, и экспериментальные исследования в этом направлении весьма желательны.

Трансферазы (ферменты переноса)

К этому классу принадлежат ферменты, катализирующие перенос целых атомных группировок от одного соединения к другому. Так, например, под действием фосфотрансфераз происходит перенос остатков фосфорной кислоты от аденозинтрифосфата на глюкозу или фруктозу. При этом образуются аденозиндифосфат и фосфорный эфир соответствующего сахара:

$$\text{аденозинтрифосфат} + \text{глюкоза} \xrightleftharpoons{\text{фосфотрансфераза}} \text{глюкозо-6-фосфат} + \text{аденозиндифосфат}$$

Образовавшийся глюкозо-6-фосфат может далее, под действием фосфотрансферазы, присоединять еще один остаток фосфорной кислоты, получив его от новой молекулы аденозинтрифосфата:

$$\text{глюкозо-6-фосфат} + \text{аденозинтрифосфат} \xrightleftharpoons{\text{фосфотрансфераза}} \text{глюкозо-1,6-дифосфат} + \text{аденозиндифосфат}$$

Фосфотрансфераза, катализирующая образование гексозофосфата из гексозы и аденозинтрифосфорной кислоты, получила название *гексокиназы*, а фермент, под действием которого из гексозомо-



Рис. 60. Кристаллическая гексокиназа из пекарских дрожжей (увеличено в 135 раз)

нофосфата образуется гексозодифосфат, — *фосфогексокиназы. Гексокиназа* найдена в животных тканях, дрожжах, листьях шпината, семенах пшеницы и гороха, проростках овса и клубнях картофеля. В настоящее время она получена из дрожжей в виде белковых кристаллов, изображенных на рис. 60.

Под действием соответствующей фосфотрансферазы происходит также фосфорилирование пировиноградной кислоты, одного из важнейших промежуточных продуктов дыхания и брожения. Этот процесс идет в соответствии с уравнением:

$$\text{аденозинтрифосфат} + \text{пировиноградная кислота} \xrightleftharpoons{\text{фосфотрансфераза}} \text{фосфопировиноградная кислота} + \text{аденозиндифосфат}$$

Переносимые фосфатные остатки аденозинтрифосфата содержат макроэргические связи, которые обладают очень большим запасом

энергии; при гидролизе такой связи освобождается около 7000 — 16 000 калорий на грамм-молекулу отщепленного фосфата. Однако не все остатки фосфорной кислоты, содержащиеся в аденозинтрифосфате, заключают в себе макроэргические связи, обозначаемые, в отличие от обычной связи, знаком ∼. Из схематической формулы аденозинтрифосфорной кислоты очевидно, что она содержит две макроэргические связи:

$$\mathrm{A-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}-O\sim\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}-O\sim\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}-OH}$$

Связь между фосфорной кислотой и аденозином является связью обычного типа, встречающейся в ряде фосфорорганических соединений; при ее гидролизе освобождается в виде тепла всего лишь 2000—3000 калорий на одну грамм-молекулу отщепленного фосфата.

Различия в запасе энергии, содержащемся в простой и макроэргической фосфатной связи, ясно видны из нижеследующих данных:

Соединение	*Запас энергии фосфатной связи*
Глюкозо-6-фосфат	3000
Фруктозо-6-фосфат	3500
Глюкозо-1-фосфат	4750
Фруктозо-1, 6-дифосфат	2000 — 3000
3-фосфоглицериновый альдегид	2000 — 3000
3-фосфоглицериновая кислота	2000 — 3000
Адениловая кислота	2000 — 3000
Аденозиндифосфат (связь 1)	7300
Аденозинтрифосфат (связь 2)	7600

Кроме аденозиндифосфата и аденозинтрифосфата, макроэргические фосфатные связи содержатся также в некоторых других органических соединениях. К их числу принадлежат[1]:

Фосфоенолпировиноградная кислота $\mathrm{CH_2{=}C(O{\sim}Ⓟ)-C(=O)OH}$ с энергией фосфатной связи 15 900 *кал*

Ацетилфосфат $\mathrm{CH_3-C(=O)-O{\sim}Ⓟ}$ с энергией фосфатной связи 7 700 *кал*

а также 1,3-дифосфоглицериновая кислота, в которой одна из фосфатных связей является простой и одна — макроэргической, с запасом энергии, равным 16250 *кал*:

$$\mathrm{Ⓟ-O\cdot CH_2-CH\cdot OH-C(=O)-O\sim}$$

[1] Знаком Ⓟ обозначен остаток фосфорной кислоты—H_2PO_3.

В некоторых низших организмах — дрожжах, плесневых грибах, отдельных видах водорослей — содержатся макроэргические соединения неорганической природы, называемые полифосфатами. Полифосфаты, по-видимому, имеют следующее строение:

$$Na-O-\overset{\displaystyle O-Na}{\underset{\displaystyle \| \atop O}{P}}-\cdots\cdots-\overset{\displaystyle O-Na}{\underset{\displaystyle \| \atop O}{P}}-\cdots\cdots-\overset{\displaystyle O-Na}{\underset{\displaystyle \| \atop O}{P}}-O-Na$$

$$\underbrace{\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad}_{n}$$

Полифосфаты обладают различным молекулярным весом: у низкомолекулярных полифосфатов n равно 3—10, а у высокомолекулярных—40—70. В дрожжах найдены ферменты, катализирующие гидролиз полифосфатов и перенос фосфатных остатков с полифосфатов на нуклеиновые кислоты. Таким образом, по-видимому, обмен полифосфатов теснейшим образом связан с обменом нуклеиновых кислот.

Катализируемый фосфотрансферазой перенос остатков фосфорной кислоты, по-видимому, происходит в три этапа. На первом этапе, катализируемом фосфотрансферазой, происходит конденсация реагирующих веществ (например, аденозинтрифосфата и фруктозы). Второй этап заключается во внутримолекулярной перегруппировке образовавшегося комплекса. Наконец, на последнем этапе, также катализируемом фосфотрансферазой, происходит гидролиз этого комплекса. Осуществляемый под действием фосфотрансфераз перенос остатков фосфорной кислоты с аденозинтрифосфата на то или иное соединение имеет очень большое биологическое значение. Благодаря этому процессу происходит передача тому или иному веществу, например глюкозе или пировиноградной кислоте, большого количества энергии, заключенной в макроэргических связях. Образующееся при этом фосфорнокислое соединение, например глюкозофосфат или фруктозодифосфат, по сравнению с исходной глюкозой или фруктозой является значительно более лабильным и способным к дальнейшим превращениям в обмене веществ.

Некоторые фосфотрансферазы катализируют перенос остатков фосфорной кислоты без участия АТФ или другого нуклеозидтрифосфата. К числу подобных фосфотрансфераз принадлежит фермент фосфоглюкомутаза. Этот фермент катализирует взаимное обратимое превращение глюкозо-1-фосфата и глюкозо-6-фосфата:

$$\text{глюкозо-1-фосфат} \underset{}{\overset{\text{фосфоглюкомутаза}}{\rightleftarrows}} \text{глюкозо-6-фосфат}$$

глюкозо-1-фосфат (в кольце: CH_2OH; при C_1: O Ⓟ)

глюкозо-6-фосфат (в кольце: $CH_2 \cdot O \cdot$ Ⓟ; при C_1: OH)

В действительности реакция происходит более сложным путем, а именно:

глюкозо-1,6-дифосфат + глюкозо-1-фосфат =
глюкозо-6-фосфат + глюкозо-1,6-дифосфат.

Таким образом, может создаться впечатление, что фосфоглюкомутаза катализирует внутримолекулярный перенос остатков фосфорной кислоты, т. е. реакцию изомеризации, в то время как в действительности она катализирует перенос остатков фосфорной кислоты от одной молекулы к другой.

К фосфотрансферазам относится также рибонуклеаза, расщепляющая рибонуклеиновую кислоту. Она получена в кристаллическом виде и представляет собой белок с молекулярным весом 14000. Этот фермент катализирует деполимеризацию рибонуклеиновой кислоты.

В настоящее время работами лабораторий С. Мура и Б. Анфинсена полностью расшифрована структура молекулы рибонуклеазы. Как видно из рис. 61, молекула этого фермента представляет собою извитую полипептидную цепь, состоящую из 124 аминокислотных остатков и содержащую 4 дисульфидных связи.

Большую роль в обмене веществ играет реакция переаминирования, открытая в 1937 г. советскими биохимиками А. Е. Браунштейном и М. Г. Крицман. Эта реакция заключается в межмолекулярном переносе аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту. Она катализируется ферментами, получившими название *аминотрансфераз*. Наибольшее значение в обмене веществ имеют следующие реакции переаминирования:

1) $HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + HOOC \cdot CO \cdot CH_2 \cdot COOH \xrightleftharpoons{\text{аминотрансфераза}}$

глютаминовая кислота; щавелевоуксусная кислота

$\rightleftarrows HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH + HOOC \cdot CHNH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$

α-кетоглютаровая кислота; аспарагиновая кислота

2) $HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + CH_3 \cdot CO \cdot COOH \xrightleftharpoons{\text{аминотрансфераза}}$

глютаминовая кислота; пировиноградная кислота

$\rightleftarrows CH_3 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH$

аланин; α-кетоглютаровая кислота

3) $HOOC \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + CH_3 \cdot CO \cdot COOH \xrightleftharpoons{\text{аминотрансфераза}}$

аспарагиновая кислота; пировиноградная кислота

$\rightleftarrows CH_3 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + HOOC \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH$

аланин; щавелевоуксусная кислота

Работами А. Мейстера показано, что под влиянием соответствующих аминотрансфераз аспарагин и глютамин также могут передавать свои аминные группы кетокислотам.

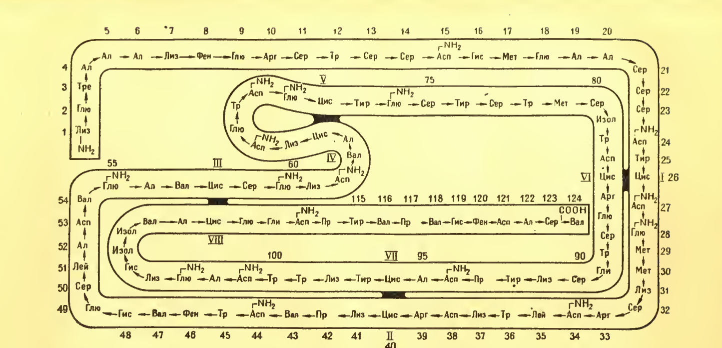


Рис. 61. Строение молекулы рибонуклеазы:

обозначения аминокислотных остатков: Гли — глицин, Изол — изолейцин, Вал — валин, Глю — глютаминовая кислота, Глю-NH_2 — глютамин, Цис — цистеин, Ал — аланин, Сер — серин, Лей — лейцин, Тр — треонин, Асп — аспарагиновая кислота, Асп-NH_2 — аспарагин, Лиз — лизин, Пр — пролин, Фен — фенилаланин, Арг — аргинин, Тир — тирозин, Мет — метионин, Гис — гистидин

В настоящеее время установлено, что аминотрансферазы являются двухкомпонентными ферментами, активная группа которых представляет собой фосфопиридоксаль — производное витамина B_6, соединенное с остатком фосфорной кислоты:

```
          C=O
          |  \
          |   H
          C
        //  \
  HO—C      C—CH₂·O·Ⓟ
     |      ||
  H₃C—C      CH
        \\  /
          N
```

фосфопиридоксаль

Так же, как и в случае переноса остатков фосфорной кислоты под действием фосфотрансфераз при переаминировании реакция идет в несколько этапов. Эти этапы следующие:

1. Образование комплекса между реагирующей аминокислотой и фосфопиридоксалем активной группы аминотрансферазы.

2. Внутримолекулярная перегруппировка образовавшегося комплекса, распадающегося далее на соответствующую аминокислоте кетокислоту и фосфопиридоксаминовую форму аминотрансферазы, в которой активная группа состоит из фосфопиридоксамина:

```
          CH₂ · NH₂
          |
          C
        //  \
  HO—C      C—CH₂O Ⓟ
     |      ||
  H₃C—C      CH
        \\  /
          N
```

фосфопиридоксамин

3. Фосфопиридоксаминовая форма аминотрансферазы затем реагирует с участвующей в переаминировании кетокислотой, образуя новый комплекс.

4. Образовавшееся комплексное соединение также подвергается внутримолекулярной перегруппировке, после чего оно распадается на новую аминокислоту и исходную пиридоксалевую форму аминотрансферазы.

Аминотрансферазы найдены у микроорганизмов, высших растений и животных.

Помимо фосфотрансфераз и аминотрансфераз, открыты ферменты, катализирующие перенос метильных и других групп. Изученный В. дю-Виньо ферментативный перенос метильных групп CH_3 имеет большое значение в процессе синтеза холина, являющегося составной частью лецитинов; холин относят к группе витаминов В. Он регулирует жировой обмен в животном организме. Холин синтезируется из метионина и аминоэтилового спирта (этаноламина) в соответствии со следующим уравнением:

$$(CH_3)_3N^+\ldots OH^- \text{—} CH_2 \text{—} CH_2OH \ (\text{холин}) + 3\, HS\text{—}CH_2\text{—}CH_2\text{—}CH(NH_2)\text{—}COOH \ (\text{гомоцистеин}) \rightleftarrows H_2N\text{—}CH_2\text{—}CH_2OH \ (\text{этаноламин}) + 3\, CH_3S\text{—}CH_2\text{—}CH_2\text{—}CH(NH_2)\text{—}COOH \ (\text{метионин}) + H_2O$$

Как показали работы Р. Бьеррума, метионин является также важным источником метильных групп при синтезе пектиновых веществ, лигнина и алкалоидов.

Как видно из приведенного выше уравнения, реакция может идти и в обратном направлении. При этом метионин образуется в результате взаимодействия холина и аминокислоты гомоцистеина, представляющей собою продукт деметилирования метионина. В составе белков гомоцистеин не найден. Гомоцистеин далее может передавать свою сульфгидрильную группу серину, в результате чего образуется аминокислота гомосерин[1] и цистеин:

$$CH_2SH\text{—}CH_2\text{—}CHNH_2\text{—}COOH \ (\text{гомоцистеин}) + CH_2OH\text{—}CH\cdot NH_2\text{—}COOH \ (\text{серин}) \xrightarrow{-H_2O} CH_2S\text{—}CH_2; \ (CH_2\text{—}CH\cdot NH_2\text{—}COOH)(CH\cdot NH_2\text{—}COOH) \xrightarrow{+H_2O} CH_2OH\text{—}CH_2\text{—}CH\cdot NH_2\text{—}COOH \ (\text{гомосерин}) + CH_2SH\text{—}CH\cdot NH_2\text{—}COOH \ (\text{цистеин})$$

Как видно из приведенного уравнения, передача сульфгидрильной группы происходит путем образования промежуточного комплекса, распадающегося далее на гомосерин и цистеин.

За последние годы описаны также ферменты, катализирующие межмолекулярный перенос более крупных группировок — остатков аминокислот и моносахаридов. Установлено, что такие протеолитические ферменты, как папаин или химотрипсин, которым до сих пор приписывалась только лишь гидролитическая функция, катализируют также межмолекулярный перенос остатков аминокислот (реакция транс-пептидации). Так, например, при действии на смесь бензоилтирозилглицинамида и меченного изотопным азотом N^{15} глицинамида эти ферменты катализируют замещение остатка глицинамида в молекуле бензоилтирозилглицинамида остатком меченого глицинамида. Происходит следующая реакция:

[1] Гомосерин, так же как и гомоцистенн, не найден в составе белков.

$$C_6H_5\text{-}CO\text{—}NH\text{-}\underset{}{\overset{R}{\overset{|}{C}}}H\text{-}CO\text{—}NH\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 + \boxed{N^{15}H_2\text{-}CH_2CO\text{—}NH_2}$$

$$\rightleftarrows$$

$$\left[C_6H_5\text{-}CO\text{—}NH\text{-}\overset{R}{\overset{|}{C}}H\text{-}\overset{OH}{\overset{|}{\underset{N^{15}H\text{-}CH_2\text{-}CO\text{—}NH_2}{\underset{|}{C}}}}\text{—}NHCH_2CO\text{—}NH_2\right]$$

$$\rightleftarrows$$

$$C_6H_5\text{-}CO\text{—}NH\text{-}\overset{R}{\overset{|}{C}}H\text{-}CO\text{—}\boxed{N^{15}H\text{-}CH_2\text{-}CO\text{—}NH_2} + NH_2\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}NH_2$$

(R представляет собой остаток — $CH_2C_6H_4OH$)

Из листьев капусты выделен фермент, катализирующий перенос остатков глицина с различных пептидов на те или иные аминокислоты. Под действием этого фермента идут, например, следующие реакции:

Источник остатков глицина	*Акцептор остатков глицина*	*Вновь образующийся пептид*
Глицилглицин	Фенилаланин	Глицилфенилаланин
Глицилглицин	Лейцин	Глициллейцин
Глицилглицин	Триптофан	Глицилтриптофан
Глицилглицин	Метионин	Глицилметионин
Глицилглицилглицин	Фенилаланин	Глицилфенилаланин

Как показал ряд исследований, путем ферментативного переноса остатков аминокислот могут быть синтезированы весьма сложные полипептиды. Таким образом, напрашивается мысль о том, что реакции транспептидации могут играть важную роль в процессе биосинтеза белка.

Аналогичным образом в молекулах полисахаридов может происходить процесс ферментативного переглюкозидирования — замещения остатка какого-либо одного моносахарида остатком другого. Так, например, может происходить замена остатка фруктозы в молекуле сахарозы на остаток сорбозы:

$$\text{сахароза} + \text{сорбоза} \rightleftarrows \text{глюкозидосорбозид} + \text{фруктоза}$$

Ферменты, катализирующие перенос остатков моносахаридов, получили название гликозилтрансфераз. К числу гликозилтрансфераз относятся ферменты, которые до сих пор были известны под названием фосфорилаз.

Эти ферменты широко распространены в растениях, животных и микроорганизмах. Представителем фосфорилаз является крахмальная фосфорилаза (α-глюканфосфорилаза), катализирующая превращение крахмала или гликогена в глюкозо-1-фосфат. Это превращение аналогично гидролизу с той разницей, что роль воды играет в данном случае фосфорная кислота, как это видно из нижеследующих формул, в которых Р в кружке обозначает остаток фосфорной кислоты — H_2PO_3.

α-глюкозо-1-фосфат

Фосфорилазы относятся к группе глюкозилтрансфераз, поскольку они катализируют перенос глюкозильного остатка на фосфорную кислоту.

Реакция фосфоролиза обратима. Однако для того, чтобы фосфорилаза синтезировала из глюкозо-1-фосфата крахмал или гликоген, необходимо присутствие в реакционной смеси незначительных количеств этих полисахаридов, действующих как «затравка».

Фосфорилаза картофеля имеет молекулярный вес 207000 и оптимум действия при pH 6,5—6,6. Для действия этой фосфорилазы необходимо наличие свободных сульфгидрильных групп; это очевидно из того факта, что действие фермента ингибируется реактивами, связывающими SH-группы, например, п-хлор-ртуть-бензоатом.

Синтез крахмала, который может происходить путем обращения реакции фосфоролиза, катализируется, по-видимому, двумя ферментами — фосфорилазой, синтезирующей полисахарид типа амилозы, и изофосфорилазой, которая синтезирует полисахарид типа амилопектина. Оба эти фермента найдены в клубнях картофеля. Кроме того, в картофельных клубнях найден также фермент, названный «энзимом Q», который без участия фосфорной кислоты катализирует превращение амилозы в амилопектин. Из пивных дрожжей выделен ферментный препарат, обладающий «ветвящим» действием и катализирующий превращение амилозы в полисахарид типа амилопектина и этого последнего — в гликогеноподобный полисахарид.

Фосфорилаза картофеля, гороха и созревающей кукурузы синтезирует из глюкозо-1-фосфата полисахарид, сходный с натуральным крахмалом, а фосфорилаза печени образует полисахарид, напоминающий гликоген.

Понятно, что действие крахмальной фосфорилазы в живой клетке сопряжено с действием других ферментов. Так, например, А. И. Опарин показал, что из глюкозо-1-фосфата может образовываться мальтоза; эта реакция, однако, идет в два этапа — сначала под действием фосфорилазы из глюкозо-1-фосфата образуется крахмал, а затем этот последний под действием амилазы превращается в мальтозу. Фосфорилаза играет большую роль в процессе превращения гликогена в животном организме и в дрожжах, а также в процессе расщепления крахмала в растениях.

К числу гликозил-трансфераз принадлежит также декстрансахараза — фермент, впервые найденный в 1942 г. советскими биохимиками Каганом, Ляткером и Цфасманом у бактерии *Leuconostoc mesenteroides*. Эта бактерия вызывает ослизнение сахарных растворов в диффузорах — нежелательный процесс, иногда приводящий к большим потерям сахара в сахарном производстве.

Фермент сахарозо-глюкозилтрансфераза (сахарозофосфорилаза) катализирует взаимодействие сахарозы и неорганического фосфата с образованием глюкозо-1-фосфата и фруктозы:

сахароза + неорганический фосфат $\rightleftarrows$ глюкозо-1-фосфат + фруктоза

Из приведенной схемы очевидно, что данная реакция является обратимой и что таким путем может происходить ферментативный синтез сахарозы из глюкозо-1-фосфата и фруктозы.

Структурная схема фосфоролиза сахарозы такова:

Сахарозофосфорилаза обладает специфическим сродством к глюкозе. Она не реагирует с другими гексозофосфатами — галактозо-1-фосфатом, маннозо-1-фосфатом, а также ксилозо-1-фосфатом. С другой стороны, сахарозофосфорилаза обладает меньшей специфичностью по отношению к фруктозе. Так, например, в реакции с глюкозо-1-фосфатом, происходящей под действием сахарозофосфорилазы, фруктоза может быть заменена ксилокетозой, арабокетозой и сорбозой, причем образуются соответствующие невосстанавливающие дисахариды, аналогичные сахарозе.

К группе гликозилтрансфераз относится также фермент пуриннуклеозидфосфорилаза (нуклеозидаза), осуществляющий в присутствии фосфорной кислоты расщепление нуклеозидов на соответствующее азотистое основание и пентозофосфат.

Реакция идет, например, следующим образом:

остаток гуанина — остаток рибозы + $H_3PO_4 \leftrightarrows$ гуанин + рибозо-1-фосфат

В заключение необходимо подчеркнуть, что ферментативный перенос различных атомных группировок и остатков целых молекул играет весьма важную роль в обмене веществ. Вместе с тем нужно отметить, что за последние годы накапливаются экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что один и тот же фермент может катализировать как реакцию гидролиза, так и реакцию переноса тех или иных групп, т. е. может одновременно обладать гидролитическим и трансферазным действием. Так, например, показано, что препараты некоторых фосфатаз одновременно обладают способностью катализировать фосфоролиз. Как мы уже отмечали выше, типичные гидролитические ферменты — папаин и химотрипсин, катализируют также реакции транс-пептидации, т. е. межмолекулярного переноса остатков аминокислот. Сахараза (инвертаза) катализирует не только гидролиз сахарозы, но и реакцию ферментативного переглюкозидирования.

Изомеразы (ферменты изомеризации)

Этот класс ферментов катализирует изомеризацию различных органических соединений, играющих важную роль в обмене веществ.

В процессе брожения участвует фермент триозофосфат-изомераза, катализирующая превращение важных промежуточных продуктов брожения —3-фосфоглицеринового альдегида и фосфодиоксиацетона:

$$\begin{array}{l} CH_2\cdot O\cdot \textcircled{P} \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHO \end{array} \underset{}{\overset{\text{изомераза}}{\rightleftarrows}} \begin{array}{l} CH_2\cdot O\cdot \textcircled{P} \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

3-фосфоглицериновый альдегид *фосфодиоксиацетон*

В образовании рибозы — пентозы, входящей в состав столь важного соединения, каким является рибонуклеиновая кислота, принимает участие фермент рибозофосфат-изомераза, катализирующая взаимное превращение кето- и альдоформ рибо-5-фосфата:

Ⓟ·O·CH₂ ... (структурные формулы)

рибо-альдозо-5-фосфат (рибозо-5-фосфат) $\rightleftarrows$ *рибо-кетозо-5-фосфат (рибулозо-5-фосфат)*

Этот фермент обнаружен в дрожжах и у некоторых бактерий. Образующаяся таким образом рибулоза может далее превращаться в арабинозу под влиянием соответствующей изомеразы, найденной у бактерии *Escherichia coli*.

Фермент глюкозофосфат-изомераза (оксоизомераза) катализирует обратимое взаимное превращение глюкопиранозо-6-фосфата и фруктофуранозо-6-фосфата:

$$\text{глюкопиранозо-6-фосфат} \xrightleftharpoons{\text{глюкозофосфат-изомераза}} \text{фруктофуранозо-6-фосфат}$$

глюкопиранозо-6-фосфат *фруктофуранозо-6-фосфат*

Таким образом, глюкозофосфат-изомераза катализирует взаимное превращение фосфорных эфиров глюкозы и фруктозы. В высших растениях взаимные превращения глюкозы и фруктозы происходят с чрезвычайной легкостью. Эти превращения осуществляются благодаря действию глюкозофосфат-изомеразы.

Из кефирных дрожжей (*Saccharomyces fragilis*) выделен фермент, катализирующий превращение галактозо-1-фосфата в глюкозо-1-фосфат. Этот фермент получил название гексозо-1-фосфат-уридилилтрансферазы.

Активная группа этого фермента представляет собою уридиндифосфатглюкозу, т. е. сочетание урацила, рибозы, двух остатков фосфорной кислоты и остатка глюкозы, соединенных между собой следующим образом:

Способность или неспособность дрожжей сбраживать галактозу теснейшим образом связана с наличием или отсутствием у них гексозо-1-фосфат-уридилилтрансферазы.

Лигазы (синтетазы)

Мы уже указывали ранее, что к этому классу относятся ферменты, катализирующие соединение двух молекул, сопровождающееся расщеплением пирофосфатной связи в АТФ или в другом нуклеозидтрифосфате. К лигазам относится, например, глютаминсинтетаза, катализирующая реакцию синтеза глютамина из глютаминовой кислоты и аммиака:

$$\text{АТФ} + \text{глютаминовая кислота} + NH_3 = \text{АДФ} + H_3PO_4 + \text{глютамин.}$$

Аналогичную реакцию синтеза аспарагина катализирует фермент аспарагинсинтетаза.

К группе лигаз относится также фермент глютатионсинтетаза, катализирующий при участии АТФ синтез восстановленного глютатиона из γ-глютамил-цистеина и глицина:

$$\text{АТФ} + \gamma\text{-глютамил-цистеин} + \text{глицин} = \text{АДФ} + H_3PO_4 + \\ + \text{восстановленный глютатион.}$$

К числу лигаз принадлежат также ферменты, катализирующие присоединение остатков различных органических кислот (уксусной, янтарной и др.) к коферменту (коэнзиму) А (см. стр. 414). Так, например, под действием фермента ацетил-коэнзим А-синтетазы образуется ацетил-коэнзим А:

$$\text{АТФ} + \text{уксусная кислота} + \text{коэнзим А} = \text{АМФ} + \text{пирофосфат} + \\ + \text{ацетил-коэнзим А.}$$

Аналогичным образом под действием соответствующих синтетаз происходит присоединение остатков янтарной кислоты или других органических кислот к коэнзиму А. Образующиеся таким образом соединения коэнзима А с различными остатками органических кислот (ацилами) являются исключительно важными источниками этих ацилов, используемых для самых разнообразных синтезов, происходящих в живой клетке.

Важную роль в обмене веществ играют лигазы, называемые карбоксилазами. Эти ферменты при участии АТФ катализируют присоединение углекислого газа к различным органическим кислотам, т. е. реакцию удлинения углеродной цепочки. Примером реакции, катализируемой карбоксилазой, может служить реакция синтеза щавелевоуксусной кислоты из пировиноградной кислоты под действием фермента пируваткарбоксилазы:

$$\text{АТФ} + \text{пировиноградная кислота} + CO_2 = \text{АДФ} + H_3PO_4 + \\ + \text{щавелевоуксусная кислота.}$$

Необходимо отметить, что карбоксилазы, катализирующие присоединение CO_2, содержат в качестве активной группы биотин. Говоря о лигазах (синтетазах), нужно сказать о группе ферментов, катализирующих присоединение остатков аминокислот к растворимой (транспортной) рибонуклеиновой кислоте. Эти синтетазы

играют важную роль в процессе синтеза белка (см. стр. 486). Примером такой синтетазы может служить синтетаза, под действием которой образуется комплекс аланин — растворимая РНК:

$$\text{АТФ} + \text{аланин} + \text{растворимая РНК} = \text{АМФ} + \text{пирофосфат} + \text{аланил} - \text{растворимая РНК}.$$

ЛИТЕРАТУРА

Афанасьев П. В. О природе ферментативной активности. «Биохимия», т. 14, вып. 3, стр. 259, 1949.

Боннер В. Д. Цитохромы высших растений. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум II, «Функциональная биохимия клеточных структур», стр. 55. Изд. АН СССР, М., 1962.

Бокучава М. А., Шуберт Т. А. и Попов В. Р. Окислительные ферменты чайного листа. «Биохимия», т. 13, вып. 1, стр. 42, 1948.

Вестгеймер Ф. Г. Ферменты и модели ферментов. Труды V Международного биохимического конгресса. Симпозиум IV «Молекулярные основы действия и торможения ферментов», стр. 9, Изд. АН СССР. 1962.

Гуиар И. И. и Крастина Е. Е. Угольная ангидраза в растениях. «Докл. АН СССР», т. 83, № 1, стр. 161, 1952.

Дурмишидзе С. В. Полифенолоксидаза винограда и ее роль в технологии виноделия. «Биохимия», т. 15, вып. 1, стр. 58, 1950.

Диксон М. и Уэбб Э. Ферменты. ИЛ. М., 1961.

Кирхгоф К. О приготовлении сахара из крахмала. «Технологический журнал», т. 9, ч. 1, стр. 3, 1812.

Классификация и номенклатура ферментов. ИЛ, М., 1962.

Колесников П. А. Об окислении гликолевой кислоты в зеленых клетках. «Докл. АН СССР», т. 60, стр. 1205, 1948.

Колобкова Е. В. Изучение фитаз пшеничной муки. «Биохимия», т. 1, вып. 4, стр. 512, 1936.

Котельникова А. В. Роль фосфатов в энергетике биохимических реакций. «Успехи биологической химии», т. 1. Изд. АМН СССР, М., стр. 332, 1950.

Кретович В. Л. Современные представления о природе и механизме действия ферментов. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 3, стр. 425, 1961.

Курсанов А. Л. Обратимое действие ферментов в живой растительной клетке. Изд. АН СССР, М., 1940.

Лелуар Л. Уридиновые коферменты. Сб. «Современные проблемы биохимии», стр. 380, ИЛ, М., 1957.

Малер Г. Металлофлавопротеины и перенос электронов. Сб. «Современные проблемы биохимии», стр. 319, ИЛ, М., 1957.

Молекулярные основы действия и торможения ферментов. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум IV. Изд. АН СССР, М., 1962.

Мосолов В. В. О специфичности действия протеиназ. «Успехи соврем. биол.», т. 44, вып. 3 (6), стр. 300, 1957.

Нейландс Дж. и Штумпф П. Очерки по химии ферментов, ИЛ, М., 1958.

Нортроп Д., Куниц М., Херриотт Р. Кристаллические ферменты. ИЛ, М., 1950.

Опарин А. И. Изменение действия энзимов в растительной клетке под влиянием внешних воздействий. Доклад на Втором международном биохимическом конгрессе, Париж, 1952. Изд. АН СССР, М., 1952.

Опарин А. И. и Дьячков Н. Н. Изменение количества ферментов в созревающих семенах. Днев. Всес. съезда ботаников в Ленинграде, стр. 44, 1928.

Опарин А. И. и Евреинова Т. Н. Образование мальтозы при действии на глюкозо-1-фосфат фосфорилазы и амилазы. «Докл. АН СССР», т. 58, № 8, стр. 1713, 1947.
Опарин А. И. и Рискина С. Р. Определение амилазы в листьях сахарной свеклы. Тр. Центр. научно-исслед. ин-та сах. пром. Сб. работ биохим. сектора, т I, вып. 12, стр. 28, 1933.
Опарин А. И. и Каден С. Б. Превращения β-амилазы в прорастающих семенах пшеницы. «Биохимия», т. 10, вып. 1, стр. 25, 1945.
Пасхина Т. С. Биосинтез и коферментные функции нуклеотидов уридина, цитидина, гуанозина и инозина. «Успехи биологической химии», т. 3, стр. 227, Изд. АН СССР, 1958.
Пейве Я. В. Микроэлементы и ферменты. Изд. АН Латвийской ССР, Рига, 1960.
Пронин С. И. Амилолитические ферменты и их роль в пищевой промышленности. Гизлегпищепром, М., 1953.
Самиер Дж. и Сомерс Г. Ф. Химия ферментов и методы их исследования. ИЛ, М., 1948.
Сисакян Н. М. Биохимическая характеристика засухоустойчивости растений. Изд. АН СССР, М., 1940.
«Advances in Enzymology and Related Subjects of Biochemistry», Vol. 1—25, Interscience Publ. Inc., New York, 1941—1963.
Baddiley J. The Structure of Coenzyme A. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 16, I, 1955.
Bergström S. a. Holman R. T. Lipoxidase and the Autoxidation of Unsaturated Fatty Acids. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 8, 425, 1848.
Bonner W. D. Jr. Soluble Oxidases and Their Functions. «Annual Rev. Plant Physiol.», 8, 427, 1957.
Crook E. M. Metals and Enzyme Activity. «Biochem. Soc. Sympos.», N° 15, Cambridge University Press, 1958.
Goddard D. R. a. Stafford H. A. Localization of Enzymes in the Cells of Higher Plants, «Annual Rev. Plant Physiol.», 5, 115, 1954.
Gregoire J. Données récentes sur la constitution et l'activité coenzymatique des nucléotides. «Bull. Soc. chim. biol.», 40, 1245, 1958.
Gunja Z. H., Manners D. J. a. Maung K., Studies on Carbohydrate-Metabolizing Enzymes. 3. Yeast Branching Enzyme. «Biochem J.», 75, 441, 1960.
Kimmel J. R. a. Smith E. L. The Properties of Papain «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem», 19. 267, 1957.
Laidler K. J. The Chemical Kinetics of Enzyme Action. Oxford University Press, 1958.
Lee I. P Potato Phosphorylase. «Biochim. et Biophys. acta», 43, 18, 1960.
Mahler H. R. Nature and Function of Metalloflavoproteins. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 17, 233, 1956.
Mehler A. H. Introduction to Enzymology. Academic Press Inc., New York, 1957.
Neilands J. B. a. Stumpf P. K., Outlines of Enzyme Chemistry 2 Edition, J. Wiley, New York, 1958.
Rao N. A., Cama H. R., Kumar S. A. a. Vaidyanathan C. S., Alkaline β-Glycerphospohatase of Green Gram (*Phaseolus radiatus*) «J. Biol. Chem.», 235, 3353, 1960.
Singer T. P. a. Kearney E. B. Chemistry, Metabolism and Scope of Action of the Pyridine Nucleotide Coenzymes. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 18, 65, 1957.
Soedigio R. a. Gruber M. Purification and Some Properties of a Protease from Pea Seeds, *Pisum sativum* L., s. sp. arvense A. and G., «Biochim. et Biophys. acta», 44, 315, 1960.
Tuve T. W. a. Anfinsen C. B. Preparation and Properties of Spinach Ribonuclease. «J. Biol. Chem.», 235, 3437, 1960.

Глава VII

РОЛЬ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ

«Основное свойство, характеризующее организмы, отличающее их от неорганизмов, заключается в постоянном деятельном обмене между их веществом и веществом окружающей среды. Организм постоянно воспринимает вещество, превращает его в себе подобное (усвояет, ассимилирует), вновь изменяет и выделяет. Жизнь простейшей клеточки, комка протоплазмы, существование организма слагается из этих двух превращений: принятия и накопления — выделения и траты вещества».

К. А. Тимирязев

В словах Тимирязева, приведенных как эпиграф к данной главе, ясно подчеркивается мысль о том, что без обмена веществ, без постоянного и непрерывного взаимодействия организма с внешней средой нет жизни. Современная материалистическая биология основывается на этом представлении о роли обмена веществ в организме. Вместе с тем все данные биохимии, накопленные за последние годы, подтверждают мысль Энгельса о ведущей роли белка в жизни и в обмене веществ у организмов. Широко применяемый в настоящее время в биохимии метод меченых атомов, дающий возможность проследить в организме судьбу ассимилированных веществ, свидетельствует о том, что любая, даже, казалось бы, почти безжизненная ткань, подобная кости или покоящемуся сухому зерну, находится в состоянии непрерывного обмена веществ, непрерывного взаимодействия с окружающей внешней средой, а также другими органами и тканями организма. Так, например, показано, что азот, ассимилированный с пищей в виде белка или аминокислот, чрезвычайно быстро проникает во все органы и, взаимодействуя с белковыми веществами любой ткани, непрерывно обновляет их.

С помощью метода меченых атомов установлено, например, что белки, входящие в состав костей, мышц, мозга и других органов животного, а также белки, содержащиеся в листьях, стеблях и семенах растений, в течение всей жизни данного организма находятся в непрерывном химическом взаимодействии с веществами, ассимилированными в виде пищи, и веществами, входящими в состав других органов растения или животного.

И. В. Мичурин указывал: «В организме каждого семени, хотя бы находящегося еще в состоянии покоя, т. е. в сухом виде, процесс жизни не останавливается, совершается постоянный, хотя и медленный, обмен веществ, поддерживающий жизнь зародышевой клетки, причем правильное течение такого обмена всецело зависит от тех условий среды, в которых семя находится до момента прорастания из него растения»[1].



Мичурин
Иван Владимирович
(1855—1935)

Процесс взаимодействия с внешней средой может происходить также у неорганических, мертвых тел. Однако в этом случае химические реакции, лежащие в основе этого взаимодействия, приводят к разрушению данного тела. В живом организме благодаря обмену веществ происходит постоянное преобразование ассимилированных веществ мертвой природы в вещества живого тела. Как указывает Энгельс, обмен веществ в данном случае является необходимым условием существования организма, условием поддержания его жизни.

Исторически сложившиеся особенности и закономерности обмена веществ лежат в основе наследственных свойств организмов. Совокупность признаков, свойственная данному виду или данному сорту растений, данной породе животных, исторически сложилась под влиянием условий внешней среды и определяется специфическим типом обмена веществ.

Современная биохимия располагает богатейшим материалом, иллюстрирующим огромное влияние условий внешней среды на обмен веществ и химические признаки организмов.

---

[1] И. В. Мичурин. Сочинения, т. 1, 1948, стр. 287.

Так, например, пшеница, выращиваемая в условиях влажного, недостаточно теплого климата, скажем в Англии, дает зерно с весьма низким содержанием белка, не превышающим 10%; та же пшеница в условиях Заволжья, Украины или Северного Кавказа дает зерно, в котором содержится до 25% белка. Юган (*Prangos pabularia*) — растение, произрастающее в альпийской зоне Таджикской ССР, является прекрасным кормом для овец; то же самое растение в условиях долин Таджикистана накапливает значительные количества ядовитых веществ, вследствие чего оно становится непригодным в качестве корма для овец.

Каучуконос золотарник (*Solidago*) в Хибинах накапливает только лишь 0,2% каучука, в то время как на Северном Кавказе в нем накапливается до 8% каучука.

Под влиянием изменения условий внешней среды происходят также глубокие качественные изменения в составе веществ, образующихся в растениях. Так, например, известно, что масличные растения при выращивании их на севере или же в горах дают масло, содержащее значительно большее количество ненасыщенных жирных кислот, чем те же растения на юге или в долинах.

Таким образом, изменение условий внешней среды, условий жизни приводит к изменению типа обмена веществ. Это изменение типа обмена веществ вынуждает изменяться сам тип развития растительных организмов. Видоизмененный тип развития является в свою очередь первопричиной изменения наследственности.

Это основное положение биологии лежит в основе переделки природы организмов и выведения новых, более совершенных форм культурных растений. Именно благодаря правильному подбору условий жизни, благодаря направленному воздействию на обмен веществ, направленному воспитанию и отбору растений удалось вывести современные сорта сахарной свеклы, содержащие в корне до 20% сахара, или же некоторые сорта подсолнечника, в семенах которых накапливается до 57% масла.

Обмен веществ слагается из множества отдельных химических реакций, протекающих в организме и лежащих в основе процессов ассимиляции и диссимиляции. Все эти реакции теснейшим образом связаны друг с другом. Данные, добытые в настоящее время экспериментальной биохимией, свидетельствуют о теснейшей взаимосвязи и неразрывности процесса поглощения и усвоения питательных веществ — ассимиляции и процесса их разложения и выделения — диссимиляции. Иногда при изучении и описании реакций, лежащих в основе обмена тех или иных соединений, например углеводов, забывают о том, что их обмен теснейшим образом связан с обменом белков, жиров, витаминов, минеральных веществ и т. д. Эта взаимная связь отдельных сторон обмена, это единство обмена веществ в организме могут быть проиллюстрированы множеством примеров. Некоторые из них будут рассмотрены в главе XIV.

Сопряженность и теснейшая взаимосвязь отдельных реакций, происходящих при ассимиляции и диссимиляции питательных веществ в организме, проявляются не только в слаженности и строго определенной последовательности этих реакций, но также в сопряженности превращений энергии, происходящих в течение всей жизни организма. Ассимиляция питательных веществ, их превращения и синтез органических соединений, образующих протоплазму и запасные вещества, требуют для своего осуществления непрерывного притока энергии. Ассимиляция углекислого газа зелеными растениями и образование в них органического вещества осуществляются за счет энергии солнечных лучей, усваиваемых листом в процессе фотосинтеза. Ассимиляция углекислого газа и биосинтез органических соединений у целого ряда микроорганизмов происходит за счет энергии, образующейся при окислении этими микроорганизмами различных неорганических веществ: водорода, сероводорода, аммиака, азотистой кислоты, соединений железа. Поскольку в данном случае биосинтез органических соединений происходит за счет энергии, выделяющейся при процессах окисления, он получил название хемосинтеза. Наконец, в организмах всех других микробов, животных и человека, живущих за счет готовых органических соединений, синтетические реакции, составляющие основу процесса ассимиляции, осуществляются за счет энергии, образующейся в результате процессов дыхания или брожения.

Здесь необходимо отметить, что свою потребность в энергии, необходимой для осуществления синтетических процессов, хлорофиллоносные растения также частично покрывают за счет дыхания.

Таким образом, все организмы черпают энергию, необходимую для осуществления синтетических реакций и процесса ассимиляции, из одновременно протекающего процесса диссимиляции — окисления различных неорганических веществ, дыхания или брожения. Свободная энергия, освобождающаяся при одной ферментативной реакции, обычно окислительно-восстановительной, используется при другой, параллельно протекающей ферментативной реакции, обычно синтетической, требующей для своего осуществления затраты определенного количества энергии.

Жизнь была бы невозможна без подобной энергетической сопряженности отдельных реакций обмена в организме и без наличия специальных систем, накапливающих свободную энергию, образующуюся при окислительно-восстановительных реакциях. По-видимому, важнейшей из таких систем, накапливающей свободную энергию и передающей ее с макроэргическими связями для использования при синтетических реакциях, является система аденозинтрифосфат⇄аденозиндифосфат.

Таким образом, из всего изложенного очевидно, что отдельные биохимические реакции, протекающие в живом организме, неразрывно связаны друг с другом. Теснейшая взаимосвязь реакций

обмена веществ проявляется не только в их химической и энергетической слаженности, но также во взаимодействии и сопряженности обмена веществ различных частей и органов живого тела. В частности, целый ряд наблюдений свидетельствует о том, что в клетке происходит постоянный обмен веществ между ядром и цитоплазмой. Как показали исследования с меченым фосфором, нуклеиновые кислоты и нуклеопротеиды, являющиеся важнейшей составной частью ядра и хромосом, подвергаются непрерывному изменению и обновлению в результате обмена веществ между ядром и цитоплазмой. В период деления клетки количество находящейся в ядре дезоксирибонуклеиновой кислоты сильно нарастает, причем это нарастание происходит за счет нуклеиновых кислот, содержащихся в цитоплазме.

С другой стороны, путем электронно-микроскопических наблюдений и опытов, проведенных с помощью изотопной методики на клетках корешков бобов и на других объектах, показано, что РНК клеточного ядра мигрирует из него в цитоплазму.

Вместе с тем данные, характеризующие интенсивность обмена веществ в различных частях клетки, указывают на то, что активность ряда ферментов значительно выше в цитоплазме, чем в ядре; это, например, установлено в отношении таких ферментов, как дипептидаза, полипептидаза, аргиназа, фосфатазы, нуклеазы, окислительно-восстановительные ферменты. Нужно отметить, что еще в середине прошлого столетия Клод Бернар и вслед за ним огромное число биологов рассматривали клеточное ядро как неотъемлемую составную часть клетки, которая регулирует и координирует происходящие в ней синтетические процессы. Однако, как показали работы Ж. Браше́, проведенные с одноклеточной зеленой водорослью *Acetabularia mediterranea*, способная к фотосинтезу растительная клетка может синтезировать белки, расти и развиваться и после удаления из нее ядра. В этом отношении *Acetabularia mediterranea* резко отличается от амебы (как известно, относящейся к простейшим одноклеточным животным), которая, будучи лишена ядра, постепенно теряет способность к росту и погибает. Результаты опытов Браше́ свидетельствуют о том, что растительные организмы не обязательно нуждаются в таком образовании, как ядро, для осуществления всех присущих им процессов биосинтеза, для развития и роста.

За последние годы подобные исследования, посвященные выяснению роли различных морфологических структур клетки в проявлении и регулировании биохимических процессов, получили широкое развитие. Установлена локализация в клетке входящих в ее состав веществ, различных ферментов и ферментных систем, изучена их роль в осуществлении важнейших физиологических функций — дыхания, фотосинтеза, биосинтеза белков, нуклеиновых кислот и других соединений. В результате подобных исследований в области ф у н к ц и о н а л ь н о й б и о х и м и и к л е т о ч-

ных структур показана теснейшая взаимосвязь и взаимозависимость всех биохимических процессов, лежащих в основе жизни.

Чем же объясняется та поразительная слаженность и сопряженность отдельных биохимических реакций, совокупность которых составляет обмен веществ в организме? Этот вопрос является одним из основных вопросов биологии, и вокруг него в течение всей истории развития этой науки развертывалась ожесточенная борьба между идеализмом и материализмом.

Идеалисты в биологии — виталисты — полагают, что закономерности обмена веществ и жизни организма объясняются существованием особой нематериальной силы, не поддающейся изучению и лежащей за пределами познания человека. Эта нематериальная, особая сила была названа виталистами «жизненной силой». Подобное представление о наличии какой-то особой, нематериальной силы, управляющей жизнью организма, видоизменялось с течением времени, по мере успехов экспериментальной науки. Так, например, в наши дни Э. Шредингер в лекциях, посвященных вопросу о том, что такое жизнь с точки зрения физики, пытаясь дать ответ на этот вопрос и рассматривая хромосомы как основу жизни, писал, что они представляют собой «прекраснейший шедевр, когда-либо достигнутый по линии господней квантовой механики».

Независимо от того, какие названия придумывают виталисты для «жизненной силы» — душа, энтелехия, внематериальные операторы и т. д., в конечном счете закономерности обмена веществ и развития организмов они объясняют творческой волей божества. Таким образом, витализм расписывается в своем бессилии познать сущность жизненных явлений на основе законов физики и химии. Таким образом, витализм, являющийся разновидностью поповщины, ставит пределы нашему познанию природы и ограничивает возможности управления жизненными процессами на пользу человеку.

Вся история развития физиологии и биохимии свидетельствует об ошибочности основного положения виталистов о непознаваемости жизненных явлений. Она свидетельствует о непрерывных поражениях витализма и его отступлении перед данными науки и практики. Так, например, предсказание виталистов, что наука бессильна производить органические вещества, образующиеся в животных и растениях, с помощью чисто химических воздействий, полностью опровергнуто всем последующим развитием органической химии. Это в свое время подчеркнул Энгельс, критикуя представление идеалистов о невозможности познания мира, о существовании непостижимых «вещей в себе». Он писал: «Самое же решительное опровержение этих, как и всех прочих, философских вывертов заключается в практике, именно в эксперименте и в промышленности. Если мы можем доказать правильность нашего понимания данного явления природы тем, что мы сами его производим, вызываем его из его условий, заставляем его к тому же служить

нашим целям, то кантовской неуловимой «вещи в себе» приходит конец. Химические вещества, образующиеся в телах животных и растений, оставались подобными «вещами в себе», пока органическая химия не стала приготовлять их одно за другим; тем самым «вещь в себе» превращалась в вещь для нас, как, например, ализарин, красящее вещество марены, которое мы теперь получаем не из корней марены, выращиваемой в поле, а гораздо дешевле и проще из каменноугольного дегтя»[1].

Успехи химии в последующие годы блестяще подтвердили справедливость этих слов Энгельса. Действительно, химикам-органикам удалось синтезировать не только такое сравнительно простое соединение, как ализарин, но и такие сложные органические вещества, образующиеся в растениях и животных, как жиры, углеводы, терпены, каротиноиды, витамины. В настоящее время химики-органики и биохимики вплотную приблизились к осуществлению труднейшей и сложнейшей задачи — синтезу белка, являющегося носителем и субстратом жизни.

Чрезвычайно яркие примеры успехов науки и поражений витализма в вопросе о сущности жизни и закономерностях обмена веществ могут быть приведены из истории развития учения о ферментах. В период, когда были произведены знаменитые работы Луи Пастёра, процесс брожения объясняли воздействием, оказываемым на сахар теми или иными микроорганизмами — дрожжами, бактериями или плесневыми грибами. Пастёр указывал, что брожение сахаристых растворов возможно только лишь благодаря жизнедеятельности тех или иных микроорганизмов, которые он называл «организованными ферментами». Противоположная точка зрения, считавшая, что брожение представляет собой чисто химический процесс, вызываемый каталитическим действием на молекулу сахара особых веществ, выделяемых микроорганизмами, не имела под собой эспериментальной почвы.

Однако биохимикам вскоре удалось получить из дрожжей сок, не содержавший клеток, но так же, как и живые дрожжи, вызывающий брожение. Таким образом, сложный процесс брожения был осуществлен с помощью содержащихся в дрожжевом соке ферментов. На основе этого открытия позже самым детальным образом была изучена каталитическая система дрожжевого сока и отдельные ферменты, входящие в ее состав.

В ответ на этот успех науки виталисты выдвинули новые возражения. Они указывали на то, что спиртовое брожение является процессом разложения и что реакции, катализируемые при физиологических условиях растворимыми ферментами — пепсином, амилазой или липазой, приводят к разложению сложных органических соединений: белка, крахмала или жира. Они подчеркивали, что

[1] Ф. Энгельс. Людвиг Фейербах и конец классической немецкой философии. Госполитиздат, 1952, стр. 17—18.

характернейшим свойством живых организмов является способность к синтезу сложных органических соединений в физиологических условиях, т. е. при сравнительно низких температурах, без воздействия применяемых химиками сильных кислот, щелочей, давлений и т. д. Осуществление подобных ферментативных реакций, как указывали виталисты, якобы невозможно вне организма.

По этому поводу К. А. Тимирязев писал, что ферментам «была присвоена роль факторов исключительно аналитического характера, исключительно разрушающих; можно было говорить: где есть сложные тела (например, белковые) и ферменты, там дана возможность появления всевозможных продуктов их распада, но этим разъяснялась только половина, и наименее интересная половина химизма организмов. Оставался открытым вопрос: а обратные и самые существенные явления — образование сложных тел из более простых — под влиянием каких факторов происходят они? Вновь из-за угла выглядывал призрак жизненной силы... Виталисты могли говорить: ваши растворимые химические ферменты только разрушают; созидание, синтез — тайна жизни»[1].

Это возражение виталистов также было опровергнуто всем последующим ходом развития биохимии. С помощью ферментов удалось при физиологических условиях синтезировать жиры, целый ряд полисахаридов—сахарозу, рафинозу, лактозу, амилозу, амилопектин, гликоген. В настоящее время доказана возможность ферментативного синтеза различных полипептидов и нуклеиновых кислот. Таким образом, и это возражение было снято.

Однако виталисты выдвинули новый аргумент. Они указывали на то, что протоплазма обладает асимметрией, и что способность к асимметрическому синтезу, в результате которого образуются оптически деятельные соединения, присуща только живой материи и не может быть воспроизведена вне организма.

Действительно, если мы производим асимметрический синтез с помощью фермента и получаем в результате преобладание правого или левого изомера, то ведь сам фермент, как вещество, образовавшееся в результате деятельности протоплазмы, является асимметрическим веществом. А может ли возникнуть асимметрическое соединение, так сказать, первичным путем, без участия какого-либо оптически деятельного вещества, являющегося продуктом жизнедеятельности протоплазмы? Может ли возникнуть первичная асимметрия под влиянием чисто физических или химических сил? Виталисты отвечали на этот вопрос отрицательно.

Однако и в этом вопросе, так же как и в других, витализм должен был отступить под натиском фактов. Удалось показать, что фотохимические реакции, идущие под влиянием поляризованного по кругу света, приводят к образованию оптически активных соединений. Это, например, было показано в отношении некоторых

[1] К. А. Тимирязев. Сочинения, т. 8, 1939, стр. 181.

производных пропионовой кислоты, а также в отношении так называемых хмелевых кислот, содержащихся в плодах хмеля. Вместе с тем установлено, что в присутствии катализаторов, содержащих оптически-активный природный минерал (например, правый или левый кварц), реакции синтеза органических соединений протекают с образованием оптически-активных форм. Таким образом, вопрос о первичном асимметрическом синтезе, происходящем под влиянием физических сил, решен в положительном смысле.

Незначительная первичная асимметрия аминокислот и белков, образовавшихся на самых начальных стадиях возникновения жизни на Земле, постепенно возрастала благодаря накоплению асимметрических соединений, поскольку в процессе развития органического мира большая степень асимметрии создавала для простейших организмов определенные биологические преимущества.

Все изложенное нами ярко свидетельствует об успехах науки и является иллюстрацией мысли К. А. Тимирязева, который в своей речи «Витализм и наука» указывал: «Приступая к объяснению какого-либо явления нельзя отправляться от того положения, что оно необъяснимо. Виталист, как виталист, обречен на бесплодие... Торжество витализма заключается только в неудачах науки, торжество противоположного воззрения — в ее успехах»[1].

Успехи экспериментальной физиологии и биохимии в объяснении жизненных явлений на основе законов физики и химии привели к весьма распространенному представлению о том, что живой организм является чрезвычайно сложной машиной, целиком и полностью подчиняющейся физическим и химическим законам. Это представление, являющееся основой механического материализма, отрицает какую-либо специфику жизненных явлений, отрицает существование специфических биологических закономерностей.

Диалектический материализм признает, что законы физики и химии полностью приложимы к явлениям жизни. Вместе с тем диалектический материализм устанавливает, что для объяснения жизненных явлений недостаточно лишь одних физических и химических законов и что эти явления подчиняются своим особым биологическим закономерностям.

Ограниченность механического материализма в вопросе о сущности жизненных явлений явствует из нижеследующих слов Энгельса: «Когда химия порождает белок, химический процесс выходит за свои собственные рамки... Он вступает в некоторую более богатую содержанием область — область органической жизни. Физиология есть, разумеется, физика и в особенности химия живого тела, но вместе с тем она перестает быть специально химией:

[1] К. А. Тимирязев. Витализм и наука, Сочинения, т. 5, 1938, стр. 188.

с одной стороны, сфера ее действия ограничивается, но, с другой стороны, она вместе с тем поднимается здесь на некоторую более высокую ступень»[1].

ЛИТЕРАТУРА

Браше Ж. Биохимическая цитология. ИЛ, М., 1960.

Брей Дж. и Уайт К. Кинетика и термодинамика биохимических процессов. ИЛ, М., 1959.

Верховская И. Н. Габелова Г. А., Зиновьева Е. Г., Клечковский В. М., Кузин А. М., Мамуль Я. В., Плышевская Е. Г., Франк Г. М., Шехтман Я. Л. Метод меченых атомов в биологии. Изд. МГУ, М., 1955.

Грин Д. Е. Структура и функция субклеточных частиц (Пленарная лекция). V Международный биохимический конгресс. Изд. АН СССР, М., 1961.

Живая клетка. Под ред. Г. М. Франка. ИЛ, М., 1962.

Опарин А. И. Жизнь. «Ж. общ. биол.», т. 12, стр. 369, 1951.

Пасынский А. Г. Биофизическая химия. Изд-во «Высшая школа, М. 1963.

Рубин Б. А. Лекции по физиологии растений. «Высшая школа», М., 1959.

Сисакян Н. М. Биохимия обмена веществ. Изд. АН СССР, М., 1954.

Сисакян Н. М. Биохимические функции клеточных структур. «Успехи соврем. биол.», 51, вып. 2, стр. 129, 1961.

Терентьев А. П. и Клабуновский Е. И. К проблеме абсолютного асимметрического синтеза. «Уч. зап. МГУ», вып. 151, кн. VIII, стр. 145, 1951.

Функциональная биохимия клеточных структур. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум II. Изд. АН СССР, М., 1962.

Энгельгардт В. А. Итоги и перспективы использования радиоактивных изотопов в биохимии. Сессия Академии наук СССР по мирному использованию атомной энергии 1—5 июля 1956 г., стр. 80, Пленарное заседание. Изд. АН СССР, М., 1955.

Baldwin E., Dynamic Aspects of Biochemistry. Fourth edition. Cambridge University Press, 1964.

Bücher T. Probleme des Energietransports innerhalb lebender Zellen. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 14, 1, 1953.

Butenandt A. Neuartige Probleme und Ergebnisse der biologischen Chemie. «Naturwissenschaften», 42, Nr. 6, 141, 1955.

Davies D. D. Intermediary Metabolism in Plants. Cambridge, 1960.

Krebs H. A. Control of Metabolic Processes. «Endeavour», 16, Nr. 63, 125, 1957.

Tiselius A., Quelques aspects généraux sur les progrés de la biochimie. «Gazetta Chimica Italiana», 84, Nr, 12, 80, 1954.

---

[1] Ф. Энгельс. Диалектика природы. Госполитиздат, 1955, стр. 204.

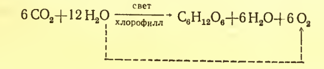
Глава VIII

ФОТОСИНТЕЗ И ХЕМОСИНТЕЗ

> «Едва ли какой процесс, совершающийся на поверхности Земли, заслуживает в такой степени всеобщего внимания, как тот, далеко еще не разгаданный процесс, который происходит в зеленом листе, когда на него падает луч солнца. Рассматриваемый с химической точки зрения, — это тот процесс, в котором неорганическое вещество, углекислота и вода, превращается в органическое. Рассматриваемый с физической, динамической точки зрения, — это тот процесс, в котором живая сила солнечного луча превращается в химическое напряжение, в запас работы. Рассматриваемый с той и другой точки зрения, — это процесс, от которого в конечной инстанции зависят все проявления жизни на нашей планете».
>
> *К. А. Тимирязев*

Происходящий за счет световой энергии процесс усвоения углекислого газа зеленым растением и образования органического вещества получил название фотосинтеза. Этот процесс является основным источником образования органических соединений на Земле. Он является также единственным источником свободного кислорода на нашей планете.

Суммарное уравнение фотосинтеза имеет следующий вид:



$$6\,CO_2 + 12\,H_2O \xrightarrow[\text{хлорофилл}]{\text{свет}} C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O + 6\,O_2$$

Оно показывает, что углекислый газ, поглощенный растением из воздуха, под влиянием солнечного света, поглощенного хлорофиллом, реагирует с поступающей в растение водой. В результате выделяется свободный кислород и образуется одна молекула гексозы.

Первым видимым продуктом фотосинтеза, возникающим с чрезвычайной легкостью на свету в зеленых листьях многих растений, является крахмал. Он синтезируется из гексоз, образовавшихся в результате фотосинтеза, и может быть легко открыт в ассимилирующем листе с помощью йодной пробы Ю. Сакса. Так, если предварительно обескрахмаленный зеленый лист закрыть черной фотографической бумагой и вырезать в бумаге надпись, затем выставить этот лист на солнечный или сильный искусственный свет, то фотосинтез и образование крахмала будут происходить только лишь в освещенных участках листа. В этом легко убедиться, обесцветив лист путем кипячения со спиртом и обработав затем его водным раствором йода в йодистом калии, дающим с крахмалом синее или фиолетовое окрашивание. Освещавшиеся участки листа, содержащие крахмал, как это видно на рис. 62, окрасятся при этом в темный цвет.



Тимирязев
Климент Аркадьевич
(1843 — 1920)

Тимирязев впервые показал, что наиболее интенсивно фотосинтез происходит в красной части спектра, которая больше всего поглощается хлорофиллом. Это было весьма наглядно показано им следующим образом. Отбросив спектр на затемненный зеленый лист и дав возможность освещенным участкам листа ассимилировать некоторое время, он затем обрабатывал его раствором йода. Оказалось, что наибольшее количество крахмала накопилось именно в той части листа, которая освещалась красными лучами. Таким образом, Тимирязев показал, что процесс фотосинтеза подчиняется основному закону фотохимии, согласно которому световая энергия должна быть прежде всего поглощена для того, чтобы она могла произвести какую-либо работу.



Рис. 62. Образование крахмала в освещенных участках листа

Количество световой энергии, затрачиваемой при фотосинтезе на образование одной грамм-молекулы гексозы, равно 686 большим калориям.

По выражению Ч. Дарвина, хлорофилл представляет собою одно из интереснейших органических соединений живой природы. Свойства хлорофилла в настоящее время изучены весьма подробно главным образом благодаря блестящим работам М. В. Ненцкого, К. А. Тимирязева, М. С. Цвета, Р. Вильштеттера и Г. Фишера. Как уже указывалось, существуют два основных вида хлорофилла, имеющие следующий состав:

хлорофилл *a* $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$;

хлорофилл *b* $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$.

Структурная формула хлорофилла *a* имеет следующий вид:

остаток фитола

остаток метилового спирта

хлорофилл a

Правильность этой структурной формулы хлорофилла была подтверждена его полным синтезом, осуществленным Р. Б. Вудвордом с сотрудниками.

Из приведенной структурной формулы видно, что хлорофилл содержит четыре соединенных между собой остатка пиррола, которые образуют так называемое порфириновое ядро (пиррольные группы отмечены в формуле цифрами 1, 2, 3, 4). Это порфириновое ядро связано двумя основными и двумя дополнительными валентностями с атомом магния.

Вместе с тем структурная формула хлорофилла *a* свидетельствует о том, что хлорофилл представляет собой сложный эфир двуосновной кислоты и двух спиртов — метилового и высокомолекулярного непредельного спирта фитола, имеющего следующее строение:

$$
\begin{array}{l}
CH_3—\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{CH}}—CH_2—CH_2—CH_2—\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{CH}}—CH_2—CH_2 \\
\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\
HO \cdot H_2C—CH=\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}}—CH_2—CH_2—CH_2—\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{CH}}—CH_2
\end{array}
$$

Как уже указано (стр. 218), фитол является производным изопрена.

Именно наличие остатка фитола в хлорофилле придает этому последнему липоидные свойства, проявляющиеся в его растворимости в жировых растворителях.



Неицкий
Марцелий Вильгельмович
(1847—1901)

При настаивании зеленых листьев в этиловом спирте можно заметить образование в клетках зеленых кристаллов. Эти кристаллы были описаны в свое время крупным русским ботаником, академиком И. П. Бородиным. Впоследствии было показано, что кристаллы эти представляют собой этилхлорофиллид — продукт замещения остатка фитола в хлорофилле остатком этилового спирта. Расщепление сложноэфирной связи между карбоксильной группой молекулы хлорофилла и остатком фитола с последующим замещением этого последнего остатком этилового спирта происходит под действием особого фермента — *хлорофиллазы.* Этот фермент отличается от большинства других ферментов тем, что может действовать в концентрированных спиртовых растворах.

Замечательным является то, что по своему строению хлорофилл весьма близок к некоторым важным дыхательным ферментам (пероксидазе, каталазе и цитохромоксидазе), а также к красящему веществу крови — гему. Как мы уже указывали ранее, в состав этих ферментов и гема также входят четыре пиррольных остатка, соединенных в виде порфиринового ядра.

Сходство строения гема и важнейшего красящего вещества растений — хлорофилла—впервые было показано одним из основоположников биохимии в нашей стране, профессором Института экспериментальной медицины в Петербурге М. Ненцким и профессором Краковского университета Л. Мархлевским.

Установление этого сходства К. А. Тимирязев считал едва ли не самым крупным открытием в области химического изучения хлорофилла.

Некоторые бактерии, обладающие способностью к усвоению углекислоты на свету (пурпурные серобактерии), содержат не хлорофилл, а так называемый бактериохлорофилл, имеющий эмпирическую формулу $C_{55}H_{74}O_6N_4\,Mg$ и указанное ниже строение[1].

бактериохлорофилл

Как показали исследования ряда ученых, в частности С. Граника, Т. Н. Годнева и других, хлорофилл и гем гемоглобина не только весьма близки по своему строению, но и образуются в организмах одним путем (см. стр. 351). Исходными веществами для биосинтеза этих соединений являются янтарная кислота и гликокол.

Гликокол, взаимодействуя с фосфопиридоксалем и производным янтарной кислоты — сукцинилкоферментом А, образует δ-аминолевулиновую кислоту. Этот процесс происходит под действием особого фермента — синтетазы δ-аминолевулиновой кислоты. Далее 2 молекулы δ-аминолевулиновой кислоты при участии специфического фермента образуют производное пиррола—порфобилиноген, который в результате ряда ферментативных превра-

[1] Так же, как и в молекуле хлорофилла, пиррольные ядра отмечены цифрами 1, 2, 3, 4.

щений в конце-концов дает соедииение, содержащее порфириновое ядро—протопорфирин-9.

Схема биосинтеза протопорфирина представлена на рис. 63.

Протопорфирин является общим предшественником хлорофиллов и железопорфириновых соединений. Если в молекулу протопорфирина включается железо, то образуется железопорфирин, который является простетической группой ферментов каталазы и пероксидазы, а также входит в состав цитохромов. Если включается магний, то образуется магнийпротопорфирин, который через ряд последовательных стадий превращается в тот или иной вид хлорофилла или в бактериохлорофилл.

Биосинтез хлорофиллов и бактериохлорофилла происходит в пластидах зеленых растений и хроматофорах фотосинтезирующих бактерий, а биосинтез железопорфириновых комплексов — как в пластидах и хроматофорах, так и в митохондриях — мельчайших образованиях, содержащихся в цитоплазме клеток (см. стр. 423).

При этом нужно отметить, что хлорофилл *b* образуется в растениях из хлорофилла *a*.

Глицин + пиридоксаль-Р + сукцинил-КоА

↓ δАЛ-синтетаза

$COOH-CH_2-CH_2-CO-CO_2NH_2$

δ-аминолевулиновая кислота (δ-АЛ)

2δ-АЛ —δ-АЛ-аза→ порфобилиноген (ПБГ)

nПБГ —дезаминаза→ полипиррилметан + (n−1)NH_3

↓ изомераза + ПБГ?

уропорфириноген III *(уроген)*

↓ урогеназа

копропорфириноген III *(копроген)*

↓ копрогеноксидаза + O_2

протопорфирин-9 *(прото)*

Рис. 63. Схема биосинтеза протопорфирина.

Содержание хлорофилла в растениях составляет в среднем около 1% от сухого вещества. Установлено, что хлорофилл распределен в зеленых частях растений неравномерно. Он находится лишь в особых образованиях, находящихся в протоплазме и получивших название пластид. Те из пластид, которые содержатся в зеленых частях растений и заключают в себе хлорофилл, называются хлорофил-

ловыми зернами, или *хлоропластами*. Те из них, которые содержатся в желтых плодах, цветах или корнях и в которых хлорофилла не содержится, а имеются лишь каротиноиды, называются *хромопластами*. Наконец, в клетках бесцветных частей растений, например в клубнях картофеля, пластиды не содержат пигментов и называются *лейкопластами*.



Рис. 64. Строение хлоропласта кукурузы (увеличено в 40000 раз)

Необходимо подчеркнуть, что между тремя видами пластид — хлоропластами, хромопластами и лейкопластами — имеются постепенные переходы. Лейкопласты содержатся также в тех частях растений, которые являются бесцветными лишь на самых ранних стадиях развития; с возрастом эти лейкопласты превращаются в хлоропласты или хромопласты.

Хлоропласты содержат в среднем от 58 до 75% воды. Сухое вещество хлоропласта состоит из белковой основы (стромы), липоидов, хлорофилла и каротиноидов. Состав сухого вещества хлоропластов колеблется в следующих пределах: белки 36,8—46,8%, липоиды 29,0—36,2%, минеральные вещества 6,4—9,6%, углеводы и другие вещества 8,1—30,2%.

Хлорофилл распределен в хлоропласте неравномерно — он содержится в отдельных гранулах. Это ясно видно на рис. 64.

Исследование изоэлектрической точки белка хлоропластов и низкое содержание в нем щелочных аминокислот (аргинина и лизина) свидетельствуют о преобладании у него кислых свойств. Весьма интересно то, что аминокислотный состав белка хлоропластов изменяется с возрастом растения.

Большое число исследований было посвящено вопросу о том, в каком виде находится хлорофилл в хлоропластах. Д. И. Ивановский, М. С. Цвет и В. Н. Любименко высказали предположение, что хлорофилл в хлоропластах связан с белком адсорбционной или химической связью. Установлено, что если в красящем веществе крови — гемоглобине — гем связан с белком в стехиометрических соотношениях, то соотношение хлорофилла и белка в хлоропластах не постоянно. Высказывается предположение о том, что хлорофилл связан с белком добавочными валентностями атома магния; с другой стороны, имеются данные, указывающие на то, что хлорофилл связан с белковой частью хлоропласта, по-видимому, с помощью свободных карбоксильных групп белка. Вместе с тем этот комплекс включает в себя также и липоиды. Таким образом, в гранулах хлоропласта имеется сложное сочетание белка, липоидов и хлорофилла; этот комплекс включает в себя также и каротиноиды. Тот факт, что хлорофилл находится в листе не в виде простого раствора, а соединен с белками и липоидами, явствует из того, что спектры поглощения растворов хлорофилла и живого листа существенно различаются между собою. Это видно из рис. 65, на котором изображены спектры поглощения живого листа ясеня и ацетонового экстракта из этого листа.

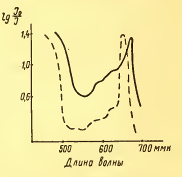


Рис. 65. Спектры поглощения листа ясеня (сплошная линия) и ацетонового экстракта из этого листа (пунктирная линия)

Сравнение спектров хлорофилла и бактериохлорофилла в растворах, пленках, кристаллах и непосредственно в живых клетках указывает на то, что, по-видимому, молекулы пигментов могут взаимодействовать между собою, образуя агрегированные формы. По всей вероятности, роль таких агрегированных форм хлорофил-

ла и бактериохлорофилла в процессе фотосинтеза несколько отличается от роли обычных мономерных форм этих пигментов.

Каким же образом хлорофилл участвует в процессе фотосинтеза? К. А. Тимирязевым было высказано предположение о том, что хлорофилл играет в зеленом листе роль фотосенсибилизатора. Как известно, фотосенсибилизаторами называются вещества, которые способны поглощать световые лучи и использовать затем поглощенную световую энергию для осуществления фотохимической реакции, не идущей в отсутствии фотосенсибилизатора. Так, например, разложение бромистого серебра на фотографических пластинках, не происходящее в некоторых лучах спектра, не поглощаемых светочувствительной эмульсией, идет весьма интенсивно, если к эмульсии прибавлен фотосенсибилизатор.

Представление Тимирязева о том, что хлорофилл играет в процессе фотосинтеза роль фотосенсибилизатора, в настояще время принимается всеми исследователями. При этом полагают, что хлорофилл, поглощая свет, претерпевает определенные химические изменения и, передавая затем энергию реагирующим при фотосинтезе соединениям, снова возвращается в исходное состояние.

Все имеющиеся в нашем распоряжении экспериментальные данные свидетельствуют о правильности мысли, высказанной в свое время Тимирязевым и Бахом, согласно которой фотосинтез представляет собой цепь окислительно-восстановительных реакций. Эту мысль Тимирязев подкрепил опытом, показав, что водород в момент выделения восстанавливает хлорофилл с образованием слабоокрашенного соединения, которое при встряхивании на воздухе снова окисляется кислородом, превращаясь в зеленый пигмент.

В настоящее время работами А. Н. Теренина, А. А. Красновского и В. Б. Евстигнеева установлено, что хлорофилл и бактериохлорофилл могут легко участвовать в фотохимических окислительно-восстановительных реакциях. Так, например, под действием света они могут обратимо восстанавливаться аскорбиновой кислотой или цистеином и далее в свою очередь восстанавливать различные соединения, в частности флавины и пиридиннуклеотиды. На важную роль окислительно-восстановительных реакций в процессе фотосинтеза указывает также то обстоятельство, что в хлоропластах содержатся весьма активные окислительно-восстановительные ферменты — дегидрогеназы, полифенолоксидаза, пероксидаза.

Приведенное выше суммарное уравнение фотосинтеза не дает никакого представления о той сложной цепи окислительно-восстановительных реакций и фотохимических процессов, которые происходят при фотосинтезе. Прежние схемы, объяснявшие химическую сущность фотосинтеза, принимали, что энергия солнечного луча, поглощаемая хлорофиллом, передается им затем молекуле углекислого газа, и под влиянием этой энергии углекислый газ распадается на углерод и свободный кислород, который выделя-

ется растением в окружающую среду. Согласно этим схемам, освобожденный углерод вступает затем в реакцию с водой и дает углеводы. Однако новейшие исследования показали, что процесс фотосинтеза идет следующим образом. Поглощенный углекислый газ в конечном счете восстанавливается водородом воды, причем образуется первичный продукт фотосинтеза. Освободившийся же кислород выделяется растением в окружающее пространство в виде молекулярного кислорода.

Таким образом, процесс фотосинтеза представляет собой окислительно-восстановительное взаимодействие углекислого газа и воды, идущее при участии хлорофилла, поглотившего энергию солнечных лучей. Это представление о механизме взаимодействия углекислого газа и воды подтверждено опытами с мечеными атомами: растение, получавшее воду, содержавшую в своем составе меченый кислород, выделяло при фотосинтезе главным образом этот меченый кислород воды (от 61 до 85%). Поглощенная хлорофиллом световая энергия в конечном счете используется для осуществления реакции расщепления (фотолиза) воды.

Все имеющиеся экспериментальные данные указывают на то, что углекислый газ восстанавливается не в свободном виде, а будучи связан с какими-то веществами.

Какие же соединения образуются в результате ассимиляции углекислого газа в процессе фотосинтеза?

Существенные результаты, проливающие свет на природу первичных продуктов, образующихся при фотосинтезе, получены за последние годы с помощью метода меченых атомов. В этих исследованиях растения ячменя, а также одноклеточные зеленые водоросли *Chlorella* и *Scenedesmus* получали в качестве источника углерода углекислый газ, содержавший меченый радиоактивный углерод C^{14}. После чрезвычайно кратковременного облучения подопытных растений, исключавшего возможность вторичных реакций, исследовалось распределение изотопного углерода в различных продуктах, образовавшихся в результате фотосинтеза. При этом было установлено, что первым продуктом фотосинтеза является фосфоглицериновая кислота; вместе с тем при весьма кратковременном облучении растений наряду с фосфоглицериновой кислотой образуется незначительное количество фосфопировиноградной и яблочной кислот. Так, например, в опытах с одноклеточной зеленой водорослью *Scenedesmus* после фотосинтеза, продолжавшегося 5 секунд, 87% изотопного углерода было обнаружено в составе фосфоглицериновой кислоты, 10% — в фосфопировиноградной кислоте и 3% — в яблочной кислоте. По-видимому, фосфопировиноградная кислота является продуктом вторичного превращения фосфоглицериновой кислоты.

При более длительном фотосинтезе, продолжающемся 15—60 секунд, радиоактивный углерод C^{14} обнаруживается также в гликолевой кислоте, триозофосфатах, сахарозе, аспарагиновой кислоте,

аланине, серине, гликоколе, а также в белках. Позже всего меченый углерод обнаруживается в глюкозе, фруктозе, янтарной, фумаровой и лимонной кислотах, а также в некоторых аминокислотах и амидах (треонин, фенилаланин, тирозин, глютамин, аспарагин).

Таким образом, опыты с усвоением растениями углекислого газа, содержащего меченый углерод, показали, что первым продуктом фотосинтеза является фосфоглицериновая кислота.

Возникает вопрос о том, к какому веществу присоединяется углекислый газ в процессе фотосинтеза?

Работы М. Кальвина, проведенные с помощью радиоактивного углерода C^{14}, указывают на то, что соединением, к которому присоединяется CO_2, вероятно, является рибулозодифосфат. Присоединяя CO_2, он дает две молекулы фосфоглицериновой кислоты. Эта последняя восстанавливается водородом воды и образует фосфоглицериновый альдегид, который частично превращается в фосфодиоксиацетон. Благодаря синтетическому действию фермента альдолазы фосфоглицериновый альдегид и фосфодиоксиацетон, соединяясь, образуют молекулу фруктозодифосфата, из которого далее синтезируются сахароза и различные полисахариды. Рибулозодифосфат, являющийся акцептором CO_2, образуется в результате ряда ферментативных превращений фосфоглицеринового альдегида, фосфодиоксиацетона и фруктозодифосфата. В качестве промежуточных продуктов при этом возникают эритрозофосфат, седогептулозофосфат, ксилулозофосфат, рибозофосфат и рибулозофосфат.

Ферментативные системы, катализирующие все эти превращения, найдены в клетках хлореллы, в листьях шпината и в других растениях.

Согласно М. Кальвину, процесс образования фосфоглицериновой кислоты из рибулозодифосфата и CO_2 носит циклический характер и схематически представлен на рис. 66.

В схеме, представленной на рис. 66, цифрами отмечены ферменты, катализирующие соответствующие превращения. Эти ферменты следующие: 1— рибулозодифосфаткарбоксилаза, 2— дегидрогеназа фосфоглицеринового альдегида, 3— изомераза фосфотриоз, 4— альдолаза, 5— фосфатаза, 6— транскетолаза, 7 — альдолаза, 8 — фосфатаза, 9 — транскетолаза, 10— рибозофосфат-изомераза, 11 — фосфокетопентозоэпимераза, 12 — фосфорибулокиназа.

Из рассмотрения схемы, представленной на рис. 66, очевидно, что хлорофилл принимает участие в расщеплении (фотолизе) воды. Остальные реакции фотосинтеза, в том числе и ассимиляция углекислого газа с образованием фосфоглицериновой кислоты, не требуют участия света и хлорофилла и являются темновыми реакциями.

Как видно из схемы, водород воды используется на восстановление фосфоглицериновой кислоты до фосфоглицеринового альде-

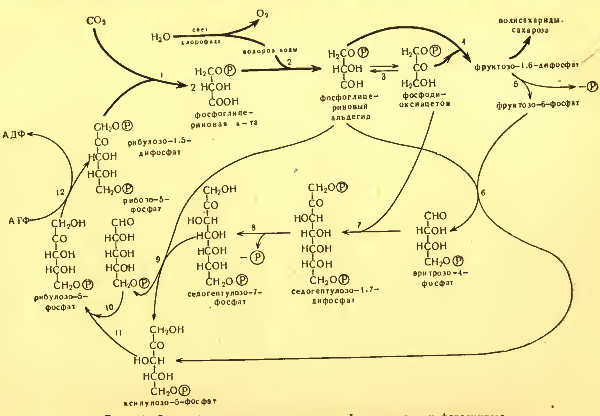


Рис. 66. Схема биохимических превращений углерода при фотосинтезе

гида. Этот процесс катализируется ферментом дегидрогеназой фосфоглицеринового альдегида и в качестве источника водорода требует участия НАДФ·H_2. Поскольку этот процесс в темноте немедленно прекращается, очевидно, что восстановление НАДФ осуществляется водородом, образующимся при фотолизе воды. На это указывает также тот факт, что из листьев выделен фермент, который катализирует фотохимическое восстановление НАДФ и НАД.

Кальвин предполагает, что в процессе переноса водорода, образующегося при фотолизе воды, на НАДФ или НАД принимает участие липоевая кислота.

Нужно отметить, что представления М. Кальвина относительно природы первичных продуктов фотосинтеза и химизма ассимиляции CO_2 разделяются не всеми исследователями. В частности, О. Варбург полагает, что фосфоглицериновая кислота представляет собою продукт вторичного превращения образующихся при фотосинтезе сахаров. Он считает, что в процессе связывания и восстановления CO_2 при фотосинтезе первостепенную роль играют аминокислоты — аланин, аспарагиновая кислота и глютаминовая кислота. Основываясь на своих опытах, проведенных с одноклеточной водорослью Chlorella, он полагает, что акцептором CO_2 при фотосинтезе является γ-аминомасляная кислота, которая, присоединяя CO_2, дает глютаминовую кислоту:

$$CO_2 + \gamma\text{-аминомасляная кислота} \underset{}{\overset{\text{глютаматдекарбоксилаза}}{\rightleftarrows}} \text{глютаминовая кислота.}$$

Световая энергия, поглощенная хлорофиллом в процессе фотосинтеза, используется не только на расщепление (фотолиз) воды.

Как показали работы Д. Арнона и других исследователей, проведенные на изолированных хлоропластах, часть световой энергии, поглощаемой хлорофиллом, превращается в химическую энергию, запасаемую впрок в макроэргических связях АТФ. Этот процесс сопровождается потреблением неорганического фосфата и получил название фотосинтетического фосфорилирования.

Согласно Арнону, при фотосинтезе происходят два типа фотосинтетического фосфорилирования: циклическое фотофосфорилирование, выражаемое уравнением:

$$n\,\text{АДФ} + n\,H_3PO_4 \xrightarrow[\text{хлорофилл}]{\text{свет}} n\,\text{АТФ},$$

и нециклическое фотофосфорилирование, которое может быть выражено следующим уравнением:

$$2\text{ТПН} + 2H_2O + 2\text{АДФ} + 2H_3PO_4 \xrightarrow[\text{хлорофилл}]{\text{свет}} 2\text{ТПН-Н} + 2\text{Н} + O_2 + 2\text{АТФ}.$$

При циклическом фотофосфорилировании вся биохимически эффективная световая энергия используется для образования АТФ, остальная же часть расходуется на образование восстановленной формы трифосфопиридиннуклеотида и на выделение кислорода.

Фотосинтетическое фосфорилирование было обнаружено Д. Арноном с сотрудниками и рядом других исследователей не толь-

ко в опытах с изолированными хлоропластами высших растений, но и в опытах с бесклеточными препаратами, полученными из различных фотосинтезирующих бактерий и водорослей.

Говоря о биохимических процессах, происходящих при фотосинтезе, нельзя не отметить того обстоятельства, что в хлоропластах и хроматофорах, т. е. тех включениях растительной или бактериальной клетки, в которых разыгрывается процесс фотосинтеза, содержатся цитохромы: цитохром *c*, цитохром b_6, цитохром *f*. По-видимому, они играют какую-то существенную роль в процессе фотосинтеза, по всей вероятности участвуя в переносе электронов, происходящем при фотосинтетическом фосфорилировании. Имеются данные, которые указывают на то, что в процессе фотосинтеза играет важную роль также кофермент Q (пластохинон), найденный в самых различных растениях и являющийся важной составной частью хлоропластов и хроматофоров (см. стр. 420).

Пластохинон представляет собою производное бензохинона (2-3-диметил-5-соланезил-бензохинон) и имеет следующее строение:

```
              O
              ‖
    H3C—  /\
         |  ‖           CH3
         |  ‖            |
    H3C—  \/—[CH2—CH=C—CH2]9—H
              ‖
              O
```

Пластохинон весьма близок по строению к убихинонам (коэнзимам Q, см. стр. 421), играющим важную роль в процессе переноса электронов при дыхании. Важная роль пластохинона в процессе фотосинтеза следует из того факта, что если его экстрагировать из хлоропластов петролейным эфиром, то фотолиз воды и фотофосфорилирование прекращаются, но возобновляются после добавки пластохинона.

У некоторых микроорганизмов, содержащих бактериохлорофилл, так называемых пурпурных серобактерий, на свету также происходит процесс фотосинтеза. Однако в отличие от фотосинтеза высших растений в данном случае восстановление углекислого газа осуществляется сероводородом. Суммарное уравнение фотосинтеза у пурпурных бактерий можно представить следующим образом:

$$CO_2 + 2H_2S \xrightarrow[\text{бактериохлорофилл}]{\text{свет}} CH_2O + H_2O + 2S.$$

Таким образом, в данном случае фотосинтез представляет собой сопряженный окислительно-восстановительный процесс, идущий под влиянием поглощенной бактериохлорофиллом световой энергии.

Как видно из приведенного уравнения, в результате фотосинтеза пурпурные бактерии выделяют свободную серу; она накапливается в них в виде гранул.

Исследования, проведенные при помощи изотопной методики с анаэробной фотосинтезирующей пурпурной бактерией *Chromatium*, показали, что при очень коротких сроках фотосинтеза (30 секунд) около 45% углерода CO_2 включается в аспарагиновую кислоту, а около 28% — в фосфоглицериновую кислоту. По-видимому, однако, образование фосфоглицериновой кислоты предшествует образованию аспарагиновой кислоты, а наиболее ранним продуктом фотосинтеза у *Chromatium*, так же как у высших растений и одноклеточных зеленых водорослей, является рибулозодифосфат. Этот последний под действием рибулозодифосфаткарбоксилазы присоединяет CO_2 с образованием фосфоглицериновой кислоты. Эта кислота у *Chromatium*, в соответствии со схемой Кальвина, может частично превращаться в фосфорилированные сахара, а в основном превращается в аспарагиновую кислоту. Образование аспарагиновой кислоты происходит путем превращения фосфоглицериновой кислоты в фосфоенолпировиноградную кислоту, которая, подвергаясь карбоксилированию, дает щавелевоуксусную кислоту; последняя путем переаминирования дает затем аспарагиновую кислоту.

Мы уже указывали, что процесс фотосинтеза, происходящий при участии хлорофилла, является в настоящее время главным источником образования органического вещества на Земле. Фотосинтез у пурпурных бактерий в общем процессе накопления органического вещества на Земле имеет ограниченное значение, поскольку эти организмы распространены только лишь в тех соленых и пресных водоемах, вода которых насыщена сероводородом.



Виноградский
Сергей Николаевич
(1856—1953)

Имеется целый ряд микроорганизмов, которые усваивают углекислый газ и синтезируют из него органические вещества, используя для этого энергию, образующуюся при окислении различных неорганических соединений: сероводорода, серы, водорода, аммиака, азотистой кислоты, закисных соединений железа и марганца. Таким образом, синтетическая деятельность этих микроорганизмов основана на использовании ими энергии, выделяющейся при химических реакциях окисления неорганических веществ. Поэтому процесс

усвоения ими углекислого газа и синтеза из него органического вещества, процесс, происходящий за счет энергии, выделяющейся при химических реакциях окисления неорганических соединений, получил название хемосинтеза. Хемосинтез был открыт знаменитым русским микробиологом С. Н. Виноградским. Его классические исследования показали, что синтез органического вещества происходит в природе не только путем фотосинтеза в зеленых растениях, но идет также в больших масштабах у не содержащих хлорофилла микроорганизмов путем хемосинтеза.

В водоемах, вода которых содержит сероводород, живут так называемые бесцветные серобактерии. Энергию, необходимую для синтеза органических соединений из углекислого газа, они получают, окисляя сероводород следующим образом:

$$2H_2S + O_2 \rightarrow 2H_2O + S_2.$$

Выделяющаяся в результате свободная сера накапливается в их клетках в виде множества крупинок.

При недостатке сероводорода бесцветные серобактерии производят дальнейшее окисление накопившейся в них свободной серы до серной кислоты. Этот процесс идет в соответствии с суммарным уравнением:

$$S_2 + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow 2H_2SO_4.$$

Образующаяся в результате окисления серы свободная энергия также используется на синтез органического вещества из углекислого газа. Суммарный энергетический эффект окисления сероводорода до серной кислоты равен 159 килокалориям на каждую окисленную грамм-молекулу сероводорода. Колоссальные количества бесцветных серобактерий имеются в Черном море, в котором, начиная с 200 метров от поверхности, вода насыщена сероводородом.

Микроорганизмы, добывающие энергию, необходимую им для синтеза органических соединений путем окисления аммиака и азотистой кислоты, носят название нитрифицирующих бактерий. Они чрезвычайно широко распространены в почве и различных водоемах и играют важную роль в круговороте азота в природе.

Аммиак, образующийся при гниении белков в почве или в водоемах, окисляется нитрифицирующими бактериями, которые были названы Виноградским *Nitrosomonas*. Этот процесс соответствует уравнению:

$$2NH_3 + 3O_2 \rightarrow 2HNO_2 + 2H_2O.$$

Энергия, выделяющаяся при этом в количестве 158 больших калорий, также используется для построения органических соединений за счет восстановления углекислого газа.

Дальнейшее окисление образовавшейся азотистой кислоты до азотной кислоты осуществляется другой группой нитрифицирующих

микроорганизмов, названных Виноградским *Nitrobacter.* Этот процесс идет согласно уравнению:

$$2HNO_2 + O_2 \rightarrow 2HNO_3$$

и сопровождается выделением 43,2 килокалорий.

Таким образом очевидно, что процесс окисления аммиака является энергетически значительно более выгодным, чем процесс окисления азотистой кислоты. В соответствии с этим, для того чтобы усвоить один атом углерода, нитритные микробы должны окислить 35 молекул аммиака; нитратные микробы получают энергию, необходимую для ассимиляции одного атома углерода в результате окисления 135 молекул нитрита.

Нитрифицирующие бактерии являются чрезвычайно специализированными микроорганизмами — они могут жить при полном отсутствии органических соединений, необходимых для развития других микробов. Более того, питательные органические вещества ядовиты для них. Вместе с тем эти микроорганизмы представляют прекрасный пример так называемого сообщества бактерий — микробы, окисляющие азотистую кислоту, получают ее в результате деятельности микробов, окисляющих аммиак; однако жизнедеятельность нитрифицирующих микробов невозможна без обычных микроорганизмов — бактерий и плесневых грибов, разлагающих в почвах и водоемах белки, содержащиеся в остатках животных и растений, с образованием аммиака.

Процесс нитрификации происходит в природе в огромных масштабах и является источником нитратов, содержащихся в почве, а также в пресных и соленых водоемах. Таким образом, жизнедеятельность нитрифицирующих бактерий представляет собой один из важнейших факторов плодородия почвы.

В некоторых местностях, в которых выпадает очень мало осадков, в результате нитрификации могут накапливаться огромные запасы нитратов. Таковы, например, залежи селитры в Чили и скопления ее, встречающиеся в некоторых пустынных районах Узбекистана.

Широко распространены в почве также бактерии, окисляющие водород в соответствии с уравнением:

$$2H_2 + O_2 = 2H_2O.$$

Энергетический эффект этой реакции составляет 112 больших калорий. Однако остается неясным — какая часть выделяющейся при этой реакции свободной энергии используется водородными бактериями на синтез органического вещества за счет углекислого газа. Необходимо отметить, что водородные бактерии не являются такими строго специализированными организмами, как, например, нитрифицирующие бактерии. Некоторые из них могут развиваться также на растворах органических веществ, например глюкозы,

при полном отсутствии водорода. Водородные бактерии окисляют водород, постоянно образующийся в результате анаэробного разложения различных органических остатков микроорганизмами почвы.

Хемосинтезирующие бактерии, окисляющие закисные соединения железа и марганца с образованием окисных соединений этих металлов, также были открыты С. Н. Виноградским. Они чрезвычайно широко распространены как в пресных, так и в морских водоемах. Благодаря их жизнедеятельности на дне болот и морей образуются огромные количества отложений руд железа и марганца. Как указывает основатель геохимии — науки о химии земной коры — академик В. И. Вернадский, разрабатываемые в настоящее время залежи железных и марганцевых руд являются результатом жизнедеятельности этих бактерий в древние геологические периоды.

При исследовании химизма ассимиляции меченого углекислого газа $C^{14}O_2$ различными хемосинтезирующими бактериями (*Thiobacillus denitrificans*, *Thiobacillus thiooxydans*, *Thiobacillus thioparus*, *Hydrogenomonas facilis*) показано, что первым стойким продуктом хемосинтеза является фосфоглицериновая кислота. Вместе с тем установлено, что в этих бактериях содержится рибулозодифосфат и что он стимулирует ассимиляцию $C^{14}O_2$, сопровождающуюся образованием меченой фосфоглицериновой кислоты. На этом основании считают, что при хемосинтезе, так же как и при фотосинтезе, присоединение углекислого газа к рибулозодифосфату является основным механизмом ассимиляции CO_2.

Необходимо отметить, что в процессе окисления серы у хемосинтезирующих серобактерий накапливаются макроэргические соединения — аденозинтрифосфорная кислота и полифосфаты. Таким образом, часть энергии, выделяющейся при окислении неорганических веществ хемосинтезирующими организмами, используется на восстановление ассимилируемого углекислого газа и на синтез органического вещества, а часть ее запасается впрок в виде макроэргических соединений.

Рассмотренные нами процессы фотосинтеза и хемосинтеза являются источниками образования органического вещества на Земле. Организмы, создающие органическое вещество путем фотосинтеза или хемосинтеза, способные синтезировать органическое вещество из углекислого газа, называются автотрофами (самостоятельно питающимися). Все остальные организмы, использующие органические вещества, синтезированные высшими растениями или микроорганизмами-хемосинтетиками, называются гетеротрофами. К их числу принадлежат бактерии, грибы, лишенные хлорофилла растения-паразиты (например, заразиха) и весь животный мир.

Вместе с тем необходимо отметить, что еще в 1914 г. русский ученый А. Ф. Лебедев на основании своих опытов с плесневыми

грибами высказал мысль о том, что гетеротрофные организмы могут частично ассимилировать углерод не только из готовых органических соединений, но также и из углекислого газа. Эта мысль за последние годы была полностью подтверждена экспериментальными исследованиями Г. Вуда, К. Веркмана, С. Очоа и других. Оказалось, что все гетеротрофы способны усваивать углекислый газ, связывая его с некоторыми кетокислотами. Это гетеротрофное связывание углекислого газа происходит благодаря обратимости каталитического действия соответствующих декарбоксилаз. Так, например, оксалоацетат-декарбоксилаза катализирует реакцию:

$$CH_3CO \cdot COOH + CO_2 \rightleftarrows HOOC \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH.$$

Таким образом, в результате связывания углекислого газа с пировиноградной кислотой происходит удлинение углеродной цепочки.

Как показали работы А. Л. Курсанова, А. М. Кузина и ряда других исследователей, гетеротрофное усвоение углекислого газа свойственно также и корням высших зеленых растений. Усвоенный корнями углекислый газ почвы, по-видимому, включается в обмен веществ растения следующим образом. Сахарà, образовавшиеся в листьях при ассимиляции CO_2 из воздуха, движутся вниз к корням. Здесь они подвергаются расщеплению, в результате которого образуется пировиноградная кислота. Эта последняя, в соответствии с приведенным выше уравнением, присоединяет к себе CO_2 почвы, образуя щавелевоуксусную кислоту, которая, включаясь в цикл ди- и трикарбоновых кислот (см. стр. 415), превращается в яблочную, лимонную и другие органические кислоты. Образовавшиеся таким образом органические кислоты, содержащие CO_2 почвы, передвигаются затем в листья, где используются в процессе фотосинтеза на образование углеводов, аминокислот и других продуктов.

Таким образом, открыт дополнительный источник углеродного питания растений за счет углекислого газа почвы.

В заключение необходимо, однако, подчеркнуть коренное различие между гетеротрофами и автотрофами. Оно заключается в том, что автотрофы могут синтезировать органические соединения полностью за счет неорганических веществ — углекислого газа и воды. Гетеротрофы же, хотя и способны в некоторой мере усваивать углекислоту, но могут это делать, лишь имея в своем распоряжении готовые органические соединения, например фигурирующую в приведенном выше уравнении пировиноградную кислоту.

ЛИТЕРАТУРА

Арнон Д. И. Фотосинтетическое фосфорилирование и единая схема фотосинтеза. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум VI, «Механизм фотосинтеза», стр. 208. Изд. АН СССР, М., 1962.

Вечер А. С. Пластиды растений. Изд. АН БССР, Минск, 1961.

Виноградов А. П. Изотопы кислорода и фотосинтез. XXIII Тимирязевское чтеиие. Изд. АН СССР, М., 1962.
Виноградский С. Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы. Изд. АН СССР, М., 1952.
Годнев Т. Н. Хлорофилл. Его строеиие и образование в растеиии. Изд. АН БССР, Мииск, 1963.
Граиик С. Пигмеиты биосинтетической цепи хлорофилла и их взаимодействие со светом. Труды V Международного биохимического конгресса. Симпозиум VI «Механизм фотосинтеза», стр. 184. Изд. АН СССР, М., 1962.
Евстигиеев В. Б. О механизме фотосенсибилизирующего действия хлорофилла. «Биофизика», т. 8, № 6, 1963.
Камен М. Д. Гемопротеиды фотосинтезирующих тканей. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум VI «Механизм фотосинтеза», стр. 253. Изд. АН СССР, М., 1962.
Колесников П. А. Оксидаза гликолевой кислоты в зеленых растениях. «Успехи соврем. биол.», т. 38, вып. 2 (5), стр. 133, 1954.
Красновский А. А. Фотохимия хлорофилла, состояние и превращения пигментов фотосинтезирующих организмов. Труды V Международного биохимического конгресса. Симпозиум VI «Механизм фотосинтеза», стр. 196. Изд. АН СССР, М., 1962.
Курсанов А. Л., Крюкова Н. Н. и Выскребенцева Э. И. Продукты темновой фиксации CO_2, образующиеся в растении при питании углекислотой через корни. «Биохимия», т. 18, вып. 5, стр. 632, 1953.
Лис Г. Биохимия автотрофных бактерий. ИЛ, М., 1958.
Механизм фотосинтеза. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум VI. Изд. АН СССР, М., 1962.
Моиз А. Продукты фиксации CO_2 растениями. Соотношение между фотосинтезом и дыханием. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум VI «Механизм фотосинтеза», стр. 321. Изд. АН СССР, М., 1962.
Ничипорович А. А. Неуглеводные продукты фотосинтеза. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум VI «Механизм фотосинтеза», стр. 360. Изд. АН СССР, М., 1962.
Осипова О. П. и Тимофеева И. В. Исследование белка хлоропластов. «Докл. АН СССР», т. 67, № 1, стр. 105, 1949.
Рабинович Е. И. Фотосинтез. ИЛ, М., т. 1, 1951; т. 2, 1953; т. 3, 1959.
Сисакян Н. М. Ферментативная активность протоплазменных структур. 5-е Баховское чтение. Изд. АН СССР, М., 1951.
Сисакян Н. М. Применение C^{14} и P^{32} в исследовании синтетических функций изолированных хлоропластов. Сессия Академии наук СССР по мирному использованию атомной энергии 1—5 июля 1955 г. Заседания отделения биологических наук, стр. 172. Изд. АН СССР, М., 1955.
Сисакян Н. М., Безингер Э. Н. и Гумилевская Н. А. Об изменении аминокислотного состава белков пластид в процессе жизнедеятельности организма. «Докл. АН СССР», т. 91, № 4, стр. 907, 1953.
Степаненко Б. Н. Работы М. Ненцкого в области химии пиррольных пигментов. «Успехи биологической химии», т. 2, стр. 7. Изд. АМН СССР, М., 1954.
Теренин А. Н. Фотохимия хлорофилла и фотосинтез. 6-е Баховское чтение. Изд. АН СССР, М., 1951.
Тимирязев К. А. Избранные работы по хлорофиллу и усвоению света растением. Изд. АН СССР, М., 1948.
Шлык А. А., Власенок Л. И., Станишевская Е. М. и Николаева Г. Н. Свет и образование хлорофилла в зеленых листьях. «Природа», т. 51, № 12, стр. 91, 1962.
Энгельгардт В. А., М. В. Ненцкий. «Биохимия», т. 16, вып. 5, стр. 486, 1951.

Arnon D. I. Conversion of Light into Chemical Energy in Photosynthesis. «Nature», 184, 10, 1959.
Bishop N. I. The Possible Role of Plastoquinone (Q—254) in the Electron Transport System of Photosynthesis. «A Ciba Foundation Symposium on Quinones in Electron Transport», J.a.A. Churchill Ltd., London, 1961.
Blinks L. R. The Photosynthetic Function of Pigments other than Chlorophyll. «Annual Rev. Plant Physiol.», 5, 93, 1954.
Calvin M. The Path of Carbon in Photosynthesis. «Science», 135, 879, 1962.
Champigny M. L. L'influence de la lumière sur la genèse des acides aminès dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum.* Thèse, Paris, 1960.
Duysens L.N.M. Energy Transformations In Photosynthesis. «Annual Rev. Plant Physiol.», 7, 25, 1956.
Egle K., Die Biosynthese der Chlorophyllfarbstoffe. «Naturwissenschaften», 40, Nr 22, 569, 1953.
Fuller R. C., Smillie R. M., Sisler E. C. a. Kornberg H. L. Carbon Metabolism in *Chromatium.* «J. Biol. Chem.», 236, 2140, 1961.
Gibson K. D., Matthew M., Neuberger A. a. Tait G. Biosynthesis of Porphyrins and Chlorophylls. «Nature», 192, 204, 1961.
Hill R. a. Whittingham C. Photosynthesis. London, 1955.
Rosenberg J. L. Photochemistry of Chlorophyll. «Annual Rev. Plant Physiol.», 8, 115, 1957.
Trebst A. The Role of Benzoquinones in the Electron Transport System. «Proc. Roy. Soc., Ser. B.», 157, N 968, 355, 1963.
Trebst A. V., Tsujimoto H. Y. a. Arnon D. I. Separation of Light and Dark Phases in the Protosynthesis of Isolated Chloroplasts. «Nature», 182, 351, 1958.
Krogmann D. W. and Olivero E. The Specificity of Plastoquinone as a Cofactor for Photosphorylation. «J. Biol. Chem.», 237, 3292, 1962.
Leech R. M. Photosynthetic Phosphorylation in Mitochondria ree Chloroplast Suspensions from Leaves of *Vicia faba* L. «Biochim. et biophys. acta», 71, 253, 1963.
Vishnlak W., Horecker B. L. a. Ochoa S. Enzymic Aspects of Photosynthesis. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 19, 1, 1957.
Warburg O. H. Weiterentwicklung der zellphysiologischen Methoden angewandt auf Krebs, Photosynthese und Wirkungsweise der Röntgenstrahlen. G. Thieme V-g, Stuttgart, 1962.
Warburg O, Krippahl G. u. Schröder W. Über den chemischen Mechanismus der Kohlensäureassimilation. «Naturwissenschaften» 43, Nr 11, 237, 1956.
Woodward R. B. Totalsynthese des Chlorophylls. «Angew. Chemie» 72, 651, 1960.

Глава IX

ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ УГЛЕВОДОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМАХ

При рассмотрении химических процессов, происходящих при фотосинтезе, мы уже указывали на то, что первичным улавливаемым продуктом фотосинтеза является фосфоглицериновая кислота. Подвергаясь дальнейшим превращениям, она дает различные моносахариды — глюкозу, фруктозу, маннозу и галактозу. Эти моносахариды образуются без всякого участия света, исключительно в результате «темновых» ферментативных реакций. На это указывает хотя бы тот факт, что в некоторых лишенных хлорофилла растениях, для которых источником питания является органическое вещество почвы, содержатся значительные количества глюкозы и фруктозы.

Образование гексоз из фосфоглицериновой кислоты или фосфоглицеринового альдегида происходит благодаря действию фермента альдолазы, содержащегося в микроорганизмах и высших растениях. Как уже указывалось ранее (см. стр. 301), этот фермент катализирует реакцию взаимодействия фосфоглицеринового альдегида и фосфодиоксиацетона с образованием фруктозодифосфата:

$$\text{фосфодиоксиацетон} + \text{3-фосфоглицериновый альдегид} \rightleftarrows$$
$$\rightleftarrows \text{фруктозо-1,6-дифосфат.}$$

Альдолаза чрезвычайно широко распространена в растительном мире. Она найдена у микроорганизмов, грибов, папоротников, хвойных, однодольных и двудольных растений. В наибольшем количестве альдолаза содержится в активно растущих частях растений. Альдолаза играет важнейшую роль в процессах превращения сахаров в растениях.

Опыты с ассимилирующими зелеными листьями растений или зелеными одноклеточными водорослями *Chlorella* и *Scenedesmus*, часто применяемыми при исследовании фотосинтеза и его химизма, показали, что наряду с моносахаридами в листьях на свету чрезвычайно быстро образуются также сахароза и крахмал. В настоящее время, однако, можно считать установленным, что образование

сахарозы и крахмала представляет собой вторичный процесс ферментативного превращения ранее образовавшихся моносахаридов.

Давно известно, что крахмал может накапливаться в срезанных листьях, которые находятся в темноте, при погружении их черешков в растворы различных сахаров, глицерина и других веществ углеводной природы.

Возможность синтеза крахмала в растениях без всякого участия световой энергии с полной определенностью вытекает прежде всего из того факта, что синтез крахмала может быть осуществлен в лаборатории из глюкозо-1-фосфата с помощью фермента фосфорилазы и других ферментов.

Сахароза точно так же может синтезироваться в растительном организме в полной темноте. Так, например, установлено, что при вакуум-инфильтрации моносахаридов в находящиеся в темноте листья сахарной свеклы или в проростки ячменя весьма быстро накапливается сахароза. При инфильтрации глюкозы или фруктозы ее количество в проростках ячменя может достигать 6% от сухого веса.

Сахароза может образовываться в растениях не только при введении в них глюкозы или фруктозы, но также и из других гексоз. Так, например, показано, что при вакуум-инфильтрации в проростки ячменя маннозы, галактозы, лактозы, мальтозы и глицеринового альдегида также наблюдается заметное накопление сахарозы. Интересно, что из пентоз — арабинозы и ксилозы — сахароза не образуется.

Образование сахарозы и крахмала при введении в ткани того или иного сахара указывает на чрезвычайную легкость, с которой происходит в растении взаимное их превращение.

Каков же механизм подобного взаимопревращения моносахаридов в растении? В течение длительного времени предполагали, что взаимопревращения глюкозы, фруктозы и маннозы происходят благодаря чисто химической енолизации этих моносахаридов, которая происходит с ними в щелочных растворах и которая описана нами на стр. 86. Это предположение получило некоторое экспериментальное подтверждение, когда было показано, что подобное взаимопревращение может происходить также и в нейтральной или даже слабо кислой среде. Однако оставалось совершенно непонятным с этой точки зрения, каким же образом происходит превращение галактозы в глюкозу и фруктозу.

В настоящее время подобная точка зрения, основанная на чисто химических превращениях моносахаридов под влиянием щелочей или фосфатов, должна быть оставлена. Имеется ряд фактов, свидетельствующих о том, что взаимопревращения моносахаридов происходят в результате действия соответствующих ферментов, катализирующих реакции фосфорилирования и образования фосфорных эфиров сахаров.

Гексозофосфорные эфиры найдены в целом ряде растений, что видно, например, из табл. 15.

В растительных организмах обнаружены также ферменты, катализирующие образование фосфорных эфиров сахаров и их взаим-

Таблица 15

Распространение гексозофосфорных эфиров

Растение	Его часть	Найден фосфорный эфир	Содержание, %	Расчет
Горох	Семена	Гексозомонофосфат	0,17	На воздушно-сухое вещество
		Фруктозодифосфат	0,14	То же
»	Мука (после инкубации с фосфатом)	Гексозомонофосфат	1,18	» »
		Фруктозодифосфат	4,47	» »
»	Листья	Гексозомонофосфат	0,05	На сырой вес
Свекла	»	»	0,03	» » »
Картофель	Клубни	Глюкозо-6-фосфат	3,50	На сухой вес
»	»	Фруктозо-6-фосфат	0,17	» » »
Овес	Ростки	Фруктозо-1,6-дифосфат	0,08	На сырой вес
»	»	Фруктозо-6-фосфат	0,05	» » »

ные превращения. Так, например, под действием фермента гексокиназы глюкоза превращается в глюкозо-6-фосфат. Это превращение происходит при участии аденозинтрифосфата, содержащегося во всех микроорганизмах, растениях и животных. Под действием фермента глюкозофосфат-изомеразы, содержащегося в дрожжах и в высших растениях, происходит обратимое превращение глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат и маннозо-6-фосфат. Благодаря действию фосфоглюкомутазы глюкозо-6-фосфат может обратимо превращаться в глюкозо-1-фосфат; фосфофруктокиназа катализирует превращение фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-дифосфат.

В бесклеточных ферментных препаратах, выделенных из растений (например, из проростков маша), найдены L-арабокиназа и D-галактокиназа, катализирующие реакции фосфорилирования L-арабинозы и D-галактозы с образованием соответственно β-L-арабинозо-1-фосфата и α-D-галактозо-1-фосфата согласно уравнению:

$$\text{D-галактоза} \rightarrow \alpha\text{-D-галактозо-1-фосфат}$$

$$\text{L-арабиноза} \rightarrow \beta\text{-L-арабинозо-1-фосфат.}$$

В растениях найдены также изомеразы, катализирующие взаимопревращения уроновых кислот:

$$\text{УДФ-D-глюкуроновая кислота} \rightleftarrows \text{УДФ-D-галактуроновая кислота,}$$

а также ксилозы и арабинозы:

$$\text{УДФ-D-ксилоза} \rightleftarrows \text{УДФ-L-арабиноза.}$$

Ферментативное превращение галактозы в глюкозу осуществляется в две стадии. Первая из них происходит благодаря каталитическому действию фермента галактокиназы, превращающего галактозу при участии аденозинтрифосфорной кислоты в галактозо-1-фосфат:

галактоза + аденозинтрифосфат ⇄ галактозо-1-фосфат + + аденозиндифосфат

Вторая стадия заключается в ферментативном превращении галактозо-1-фосфата в глюкозо-1-фосфат. Ферменты, катализирующие эти превращения, выделены из дрожжей (см. стр. 332). Образовавшийся глюкозо-1-фосфат может далее под действием фосфоглюкомутазы подвергаться ферментативному превращению в глюкозо-6-фосфат, а этот последний благодаря действию глюкозофосфат-изомеразы — во фруктозо-6-фосфат.

Образование свободных моносахаридов из их фосфорных эфиров происходит под действием фосфатаз, также чрезвычайно широко распространенных в растениях и микроорганизмах.

Примером такой фосфатазы является фермент, выделенный из незрелых семян гороха и катализирующий гидролиз глюкозо-1-фосфата, глюкозо-6-фосфата, галактозо-1-фосфата и фруктозо-6-фосфата; этот фермент имеет оптимум pH при $pH = 4{,}4—4{,}7$, причем он значительно быстрее гидролизует глюкозо-6-фосфат и фруктозо-6-фосфат, чем глюкозо-1-фосфат и галактозо-1-фосфат.

Чрезвычайно широко распространена в растениях сахароза. Она является углеводом, встречающимся только в растительном организме и играющим очень большую роль в обмене веществ у растений. Целый ряд исследований показал, что сахароза представляет собою наиболее легко усвояемый растением сахар. Так, например, при культивировании в стерильных условиях отдельных органов растений — корней или зародышей — было показано, что сахароза является прекрасным источником углеводного питания, значительно превосходящим почти все другие сахара́. Так, при культивировании корешков томата в стерильных условиях на искусственной питательной среде скорость их роста на десяти испробованных сахарах колебалась в пределах от 0 до 0,7 миллиметра в сутки, тогда как на сахарозе она была равна 3,6 миллиметра. Аналогичные данные получены также при выращивании выделенных из семян зародышей на стерильных питательных средах.

Как известно, в некоторых растениях сахароза может накапливаться в чрезвычайно больших количествах. Таковы, например, сахарная свекла и сахарный тростник. Возникает вопрос о том, каким образом происходит в растениях синтез сахарозы. Первоначально предполагали, что сахароза синтезируется благодаря обратимости действия инвертазы (сахаразы) аналогично тому, как это показано для синтеза глицеридов под действием липазы и для син-

теза различных глюкозидов под влиянием глюкозидаз. Однако многочисленные попытки осуществления ферментативного синтеза сахарозы с помощью инвертазы не дали положительных результатов. При изучении углеводного обмена растений многократно были сделаны наблюдения, указывающие на то, что биосинтез сахарозы в растительных тканях теснейшим образом связан с фосфорным обменом. Так, например, Н. М. Сисакян, работавший с сахарной свеклой, показал, что фосфатное голодание затрудняет синтез сахарозы и вызывает понижение ее содержания в корне; вместе с тем фосфатное голодание свеклы приводит к значительному снижению интенсивности биосинтеза сахарозы в листьях. Эти косвенные указания, свидетельствующие о важной роли фосфорной кислоты в биосинтезе сахарозы, находятся в соответствии с данными А. И. Опарина и А. Л. Курсанова, которые, работая с ферментными препаратами, выделенными из дрожжей, впервые указали на возможность прямого участия фосфорной кислоты в процессе ферментативного синтеза сахарозы. Вместе с тем об этом также говорит факт нахождения в ряде растений (свекла, горох, картофель) заметных количеств гексозофосфатов. Этот факт указывает на возможное участие фосфорилирующих ферментов и процессов фосфорилирования углеводов в биосинтезе сахарозы. Последнее предположение подтверждается также тем, что ферментные яды, угнетающие процесс фосфорилирования (монойодуксусная кислота CH_2JCOOH и фтористый натрий NaF) угнетают процесс синтеза сахарозы в растениях из смеси глюкозы и фруктозы.

Все эти косвенные указания, свидетельствующие о важной роли фосфорной кислоты в процессе ферментативного синтеза сахарозы в растениях, подтвердились после того, как была описана сахарозофосфорилаза — фермент, катализирующий синтез сахарозы из глюкозо-1-фосфата и фруктозы (см. стр. 330).

Мы уже указывали ранее, что сахарозофосфорилаза обнаружена до сего времени лишь в двух видах бактерий. Что же касается высших растений, то все попытки выделить из них этот фермент остаются пока безуспешными.

Более детальные исследования свойств сахарозофосфорилазы, выделенной из бактерии *Pseudomonas saccharophila*, показали, что глюкозо-1-фосфат не является единственным субстратом, представляющим собой исходное вещество для образования сахарозы. Было показано, что глюкозо-1-фосфат является лишь одним из ряда соединений, участвующих под действием сахарозофосфорилазы в синтезе сахарозы. Оказалось, что этот фермент катализирует перенос глюкозы, содержащейся в ряде субстратов, к различным «акцепторам» (трансгликозилирование). Таким образом, благодаря этой ферментативной функции дисахариды могут синтезироваться и расщепляться путем замены одной глюкозидной связи другой. Так, например, сахароза, взаимодействуя с сорбозой, образует дисахарид глюкозидо-1-сорбозид и свободную фруктозу:

D-глюкозидо-1-фруктозид + сорбоза ⇄ D-глюкозидо-1-сорбозид +
сахароза
+ фруктоза.

Точно так же благодаря транс-гликозилазному действию фермента, выделенного из указанных выше бактерий, сахароза может быть синтезирована из дисахарида глюкозидо-ксилокетозида и фруктозы:

D-глюкозидо-1-ксилокетозид + фруктоза ⇄
⇄ D-глюкозидо-1-фруктозид + ксилокетоза.
сахароза

Обе реакции являются обратимыми и могут служить примерами ферментативного синтеза сахарозы (а также других дисахаридов), происходящего без всякого участия фосфорных соединений.

О том, что синтез сахарозы может происходить путем реакции трансгликозилирования, свидетельствуют результаты опытов, показавших, что в зародышах пшеницы, кукурузы и бобов, а также в семенах гороха и в ростках картофеля, имеется ферментативная система, катализирующая реакцию уридиндифосфатглюкозы (УДФГ) с фруктозой, в результате которой образуются сахароза и уридиндифосфат (УДФ):

УДФГ + фруктоза ⇄ УДФ + сахароза.

В листьях сахарной свеклы, шпината и в пшеничных зародышах обнаружена ферментная система, катализирующая синтез сахарозофосфата из фруктозо-6-фосфата и уридиндифосфатглюкозы.

Строение уридиндифосфатглюкозы представлено на стр. 332. Уридиндифосфатглюкоза обнаружена в ряде растений: в пшеничных зародышах, проростках фасоли, листьях сахарной свеклы, в одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella*, а также в плодах банана.

Таким образом, биосинтез сахарозы у высших растений происходит путем трансгликозилирования в соответствии с одной из вышеуказанных реакций.

Установление факта ферментативного синтеза сахарозы при участии уридиндифосфатглюкозы имеет большое принципиальное значение, поскольку возможно, что в растениях может происходить присоединение фруктозы к остатку глюкозы, соединенному не тольс с уридиндифосфатом, но также с рядом других фосфорилированных нуклеозидов.

Согласно современным представлениям, именно эта ферментная система в живой растительной клетке катализирует синтез сахарозы. Что же касается вышеприведенной ферментативной реакции взаимодействия уридиндифосфата с сахарозой, то эта реакция в живом растении, по-видимому, служит в основном для расщепления сахарозы.

Путем трансгликозилирования при участии УДФГ происходит также биосинтез трегалозы у дрожжей. Из диализированного дрожжевого сока пивных дрожжей выделен фермент, катализирующий реакцию:

УДФГ + глюкозо-6-фосфат → УДФ + трегалозо-6-фосфат.

Необходимо отметить, что уридиндифосфатглюкоза, по-видимому, играет первостепенную роль также и в процессе синтеза в растениях глюкозидов. Как мы уже отмечали ранее, глюкозиды могут образовываться благодаря синтезирующему действию соответствующих глюкозидаз, например β-глюкозидазы, с которой были проведены знаменитые работы Э. Буркло́. Однако новейшие исследования показывают, что биосинтез глюкозидов в растении может идти также путем реакции ферментативного трансгликозилирования при участии уридиндифосфатглюкозы (см. стр. 332). Так, например, показано, что в пшеничных зародышах содержатся ферменты, катализирующие синтез арбутина из гидрохинона и уридиндифосфатглюкозы, являющейся источником сахара.

Точно так же ферментный препарат, выделенный из молодых растений фасоли, катализирует синтез кверцетин-моно-глюкуронида из кверцетина и уридиндифосфатглюкуроновой кислоты.

Синтез в растениях такого важнейшего запасного углевода, каким является крахмал, также происходит при участии уридиндифосфатглюкозы и соответствующих трансфераз, катализирующих перенос остатков глюкозы с уридиндифосфатглюкозы на крахмал. При этом синтез крахмала идет в соответствии со следующим уравнением:

УДФГ + затравка (крахмал) → УДФ + крахмал.

Синтез крахмала таким путем осуществлен с помощью ферментного препарата, выделенного из семян фасоли. Интересно, что этот ферментный препарат в 10 раз более активно переносит глюкозный остаток с аденозиндифосфатглюкозы на крахмал, чем с уридиндифосфатглюкозы.

Реакция ферментативного трансгликозилирования позволяет объяснить известный факт чрезвычайно легкого превращения крахмала и инулина в сахарозу и образование этих сложных полисахаридов из сахарозы.

Известно, что крахмал, накапливающийся в листьях при фотосинтезе, может очень быстро превращаться в сахарозу, являющуюся важнейшей транспортной формой углеводов в растении, в виде которой образовавшиеся при фотосинтезе углеводы перетекают из листа в семена, клубни и луковицы, где сахароза снова превращается в крахмал или инулин. Весьма существенно отметить при этом, что амилазы не принимают никакого участия в процессе прев-

ращения крахмала в сахарозу, поскольку мальтоза и декстрины не накапливаются в листьях и стеблях ассимилирующих растений.

Прекрасным примером взаимопревращений крахмала и сахарозы могут служить процессы, происходящие в хранящихся картофельных клубнях. При низких температурах — от 0° до + 9° С — в картофельных клубнях происходит снижение содержания крахмала и соответствующее накопление сахарозы; интересно, что при этом происходит заметное накопление фруктозо-6-фосфата. Превращение крахмала в сахарозу и фруктозо-6-фосфат, происходящее во время хранения картофеля при 0° С, хорошо иллюстрируется данными, приведенными в табл. 16.

Таблица 16

Превращение углеводов в картофеле, хранившемся две недели при 0°С

Углеводы	Содержание в % от сухого веса	
	в исходном картофеле	в картофеле, хранившемся при 0°С
Крахмал	67,0	61,0
Глюкоза	0,6	0,8
Фруктоза	0,2	1,5
Сахароза	1,1	6,7
Глюкозо-1-фосфат	0,0	0,2
Глюкозо-6-фосфат	3,5	0,7
Фруктозо-6-фосфат	0,2	2,5

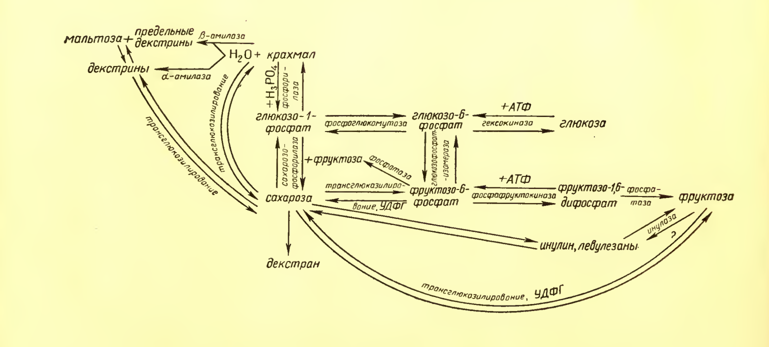
Подобные же изменения происходят в хранящихся клубнях топинамбура, в которых главным запасным углеводом является инулин. Наблюдения Б. А. Рубина и Е. В. Арциховской показали, что в клубнях топинамбура, оставленных осенью в земле, значительная часть инулина превращается в сахарозу и аналогичные декстринам продукты гидролиза инулина.

При перенесении картофеля в условия более высокой температуры происходит обратный процесс — превращение сахарозы, образовавшейся в условиях пониженных температур, в крахмал. Необходимо отметить, что при вакуум-инфильтрации различных сахаров в листья образование крахмала происходит наиболее быстро из сахарозы.

Происходящий в растениях столь легко синтез крахмала из сахарозы, по-видимому, идет следующим путем:

$$\text{сахароза} + \text{УДФ} \rightleftarrows \text{УДФГ} + \text{фруктоза и далее}$$
$$\text{УДФГ} + \text{затравка (крахмал)} \rightarrow \text{УДФ} + \text{крахмал}$$

Превращение сахарозы в высокомолекулярные полисахариды, образующие при гидролизе глюкозу, происходит с чрезвычайной легкостью у некоторых микроорганизмов. Примером подобного превращения может служить образование из сахарозы слизистого полисахарида декстрана (см. стр. 120), происходящее под влиянием жизнедеятельности бактерии *Leuconostoc mesenteroides*. Развитие


мальтоза + предельные декстрины
β-амилаза
H_2O + крахмал
декстрины
α-амилаза
трансглюкозилирование
трансглюкозилирование
$+H_3PO_4$
фосфорилаза
глюкозо-1-фосфат
фосфоглюкомутаза
глюкозо-6-фосфат
+АТФ
гексокиназа
глюкоза
сахарозо-фосфорилаза
+фруктоза
фосфатаза
глюкозофосфат-изомераза
трансглюкозилирование, УДФГ
сахароза
фруктозо-6-фосфат
+АТФ
фосфофруктокиназа
фруктозо-1,6-дифосфат
фосфатаза
фруктоза
инулаза
?
инулин, левулезаны
декстран
трансглюкозилирование, УДФГ

этой бактерии в диффузорах сахарных заводов иногда вызывает значительные осложнения в их работе и большие потери сахара.

Происходящее при этом ферментативное превращение сахарозы в декстран идет в соответствии с уравнением:

$$m \text{ сахароза} \rightarrow m \text{ фруктоза} + \text{декстран.}$$

Аналогичным образом под действием некоторых бактерий, например сенной палочки, *Bacillus subtilis*, вызывающей так называемую «тягучую» болезнь хлеба, происходит процесс ферментативного транс-фруктозилирования. При этом из сахарозы образуются глюкоза и леван, дающий при гидролизе фруктозу:

$$m \text{ сахароза} \rightarrow m \text{ глюкоза} + \text{леван.}$$

Реакции образования из сахарозы декстрана и левана могут быть осуществлены с помощью бесклеточных ферментных препаратов, полученных из соответствующих микроорганизмов.

Весьма интересным является вопрос о наличии в высших растениях аналогичных ферментов, катализирующих превращения сахарозы в различные полиглюкозиды и полифруктозиды. Этот вопрос особенно интересен в связи с тем, что у некоторых растений, как, например, у злаков и лилейных, роль транспортных углеводов, в виде которых происходит их отток из листа, наряду с сахарозой играют также левулёзаны. Особенно яркий пример подобной роли левулёзанов в растении могут дать злаки. Так, например, у ржи углеводы, образовавшиеся в листьях при фотосинтезе, превращаются в левулёзаны различного молекулярного веса, в виде которых они поступают затем в стебель и созревающий колос. Содержание левулёзанов в ржаном зерне на ранних фазах его формирования может достигать 32% от сухого вещества. Содержание крахмала на этих фазах весьма незначительно — всего лишь около 9%. По мере дальнейшего созревания зерна происходит превращение левулёзанов в крахмал; к моменту восковой или полной спелости содержание левулёзанов в зерне не превышает 0,5%. Этот процесс превращения левулёзанов в крахмал, происходящий в созревающем зерне ржи, хорошо иллюстрируется данными, приведенными в табл. 17.

В связи с важной ролью, которую играют инулин и левулёзаны в обмене веществ многих растений, заслуживают внимания факты обнаружения в растениях ферментов, катализирующих взаимные превращения полифруктозидов и сахарозы. Так, например, в молодых побегах земляной груши найден фермент, который в присутствии фосфатов катализирует превращение сахарозы в полифруктозиды и свободную глюкозу; из клубней артишока выделены ферментные препараты, катализирующие перенос остатков фруктозы с инулина на сахарозу и свободную фруктозу.

Таблица 17

Превращение углеводов в созревающем зерне ржи
(по А. Р. Кизелю и В. Л. Кретовичу)

Углеводы	Содержание в % от сухого веса по данным на:			
	25 июня	3 июля	15 июля	28 июля
Моносахариды	6,1	2,1	0,4	2,1
Сахароза	6,0	4,4	3,1	2,8
Левулёзаны	31,8	12,2	3,0	0,4
Мальтоза	0,0	0,0	0,0	0,0
Крахмал	9,0	25,9	37,5	41,2
Гемицеллюлозы	5,7	12,8	16,2	17,5
Клетчатка	2,0	2,0	2,0	2,4

Все приведенные выше данные свидетельствуют о чрезвычайной легкости, с которой происходят взаимные ферментативные превращения глюкозы, фруктозы, сахарозы, крахмала и левулёзанов (включая инулин).

В настоящее время эти превращения и катализирующие их ферментные системы изучены далеко не полностью. Однако на основании всего имеющегося в нашем распоряжении экспериментального материала можно наметить схему взаимных превращений всех этих углеводов в растениях (см. стр. 375).

Приведенная схема не дает представления о возможных путях образования в растении пентоз. Мы уже указывали ранее (см. стр. 117), что пентозы могут образовываться путем декарбоксилирования уроновых кислот, чрезвычайно широко распространенных в растительных организмах в виде различного рода полиуронидов. Так, например, имеются экспериментальные данные, которые свидетельствуют о том, что ксилан синтезируется из ксилозы, которая образуется путем окисления глюкозы у шестого углеродного атома и последующего декарбоксилирования возникающей таким образом уроновой кислоты.

В настоящее время экспериментально доказано, что пентозы также могут образовываться путем декарбоксилирования кислот, образующихся при окислении молекулы гексозы у первого углеродного атома. Так, при декарбоксилировании фосфоглюконовой кислоты ферментными препаратами, выделенными из дрожжей, бактерий и высших растений, образуется фосфорный эфир кетопентозы, называемой рибулозой; образовавшийся таким образом рибулозо-фосфат под действием рибозофосфат-изомеразы (см. стр. 331) дает рибозо-фосфат. При этом образуется рибозо-5-фосфат, который под влиянием фермента фосфорибомутазы превращается в рибозо-1-фосфат. Таким образом, превращение фосфоглюконовой кислоты в фосфопентозы можно представить в виде следующей схемы:

6-фосфоглюконовая кислота → *рибокетозо-5-фосфат (рибулозо-5-фосфат)* ⇌ *рибоальдозо-5-фосфат (рибозо-5-фосфат)* ⇌ *рибофуранозо-5-фосфат* ⇌ *рибофуранозо-1-фосфат*

Здесь же необходимо напомнить (см. стр. 332), что образовавшаяся таким образом рибулоза под действием особой изомеразы может превращаться в арабинозу, а специфическая изомераза катализирует превращение рибулозо-5-фосфата в ксилулозо-5-фосфат. Таким образом, в результате ферментативных превращений фосфоглюконовой кислоты может образоваться целый ряд пентоз и их фосфорных эфиров.

Рассматривая описанный путь образования пентоз из гексоз, нужно отметить, что если уроновые кислоты чрезвычайно широко распространены в растениях, то глюконовая кислота и подобные ей другие кислоты в высших растениях не накапливаются и являются продуктами окислительного расщепления гексоз некоторыми плесневыми грибами.

Наконец, образование пентоз можно представить себе как результат синтезирующего действия альдолазы. Мы уже указывали ранее, что при взаимодействии фосфодиоксиацетона и фосфоглицеринового альдегида, происходящем под влиянием альдолазы, образуется фруктозодифосфат (см. стр. 301). Мейергофом показано, что под действием альдолазы фосфодиоксиацетон может обратимо конденсироваться не только с глицериновым альдегидом, но также с целым рядом других альдегидов, найденных в растениях, причем в результате этой реакции образуются пентозы. Так, например, при ферментативной конденсации фосфодиоксиацетона с уксусным альдегидом образуется фосфорнокислый эфир 5-дезоксикетопентозы:

$$CH_2OHCOCH_2OPO_3H_2 + CH_3CHO \xrightleftharpoons{\text{альдолаза}}$$

$$\rightleftharpoons CH_3CHOHCHOHCOCH_2OPO_3H_2$$

При аналогичной реакции с гликолевым альдегидом образуется фосфорилированная кетопентоза:

$$CH_2OHCOCH_2OPO_3H_2 + CH_2OHCHO \xrightleftharpoons{\text{альдолаза}}$$

$$\rightleftharpoons CH_2OHCHOHCHOHCOCH_2OPO_3H_2.$$

Таким образом, альдолаза, найденная во всех растениях, может катализировать биосинтез как гексоз, так и пентоз.

Несмотря на то, что пентозы могут образовываться тремя описанными выше путями, в настоящее время можно считать установленным, что у высших растений особенно важным является путь, основанный на декарбоксилировании уроновых кислот. Так, на примере растений пшеницы, кукурузы и маша показано, что меченные радиоактивным углеродом D-глюкуроновая кислота и ее лактон являются исходными веществами для синтеза пентозанов. При этом процесс образования пентозанов сопровождается декарбоксилированием глюкуроновой кислоты. Уроновые кислоты являются также исходным материалом для синтеза пектиновых веществ. Это ясно показано с помощью изотопной методики. Так, например, меченный радиоактивным углеродом D-глюкуронолактон в созревающих ягодах клубники интенсивно включается в состав пектина; энергичное включение радиоактивности D-глюкуроновой и D-галактуроновой кислот в состав пектиновых веществ наблюдалось также в опытах, проведенных с проростками маша.

Во взаимопревращениях моносахаридов у растений, микроорганизмов и животных наряду с альдолазой важную роль играют ферменты *транскетолаза* (ТК) и *трансальдолаза* (ТА). Так, например, фосфопентозы, образующиеся в процессе окислительного превращения глюкозы и фосфоглюконовой кислоты, могут подвергаться следующим реакциям:

$$\text{ксилулозо-5-фосфат} + \text{рибозо-5-фосфат} \xrightleftharpoons{\text{ТК}} \text{седогептулозо-7-фосфат} +$$
$$+ \text{глицеринальдегид-3-фосфат}$$

и далее:

$$\text{седогептулозо-7-фосфат} + \text{глицеринальдегид-3-фосфат} \xrightleftharpoons{\text{ТА}}$$
$$\rightleftharpoons \text{фруктозо-6-фосфат} + \text{эритрозо-4-фосфат.}$$

Транскетолаза может катализировать также следующую реакцию:

$$\text{фруктозо-6-фосфат} + \text{глицеринальдегидфосфат} \xrightleftharpoons{\text{ТК}}$$
$$\rightleftharpoons \text{эритрозо-4-фосфат} + \text{ксилулозо-5-фосфат.}$$

Таким образом, благодаря альдолазе, транскетолазе и трансальдолазе происходят ферментативные взаимопревращения триоз, тетроз, пентоз, гексоз и гептоз.

Особенно глубокие превращения углеводов происходят при отложении их в запасных органах, подобных корневищам, клубням, луковицам и семенам, а также при прорастании, когда за счет веществ, отложенных в этих вместилищах запасов, происходит формирование тканей развивающегося молодого растения.

Процесс прорастания семян, клубней и луковиц сопровождается глубоким гидролизом отложенных в них высокомолекулярных полисахаридов, в первую очередь крахмала и инулина, с образованием растворимых углеводов. Благодаря резкому возрастанию активности α- и β-амилаз происходит гидролиз крахмала с образованием декстринов и мальтозы; в клубнях и корнях, содержащих инулин, под действием инулазы происходит энергичный гидролиз инулина с образованием фруктозы и продуктов расщепления инулина — инулидов. Резкое понижение количества крахмала, происходящее при прорастании семян, может быть проиллюстрировано нижеследующими данными, характеризующими содержание крахмала в прорастающих семенах фасоли:

26	июня	— 62,07%	крахмала
5	июля	— 52,4%	»
8	»	— 34,5%	»
14	»	— 20,2%	»
19	»	— 14,6%	»

Исчезновение крахмала сопровождается резким нарастанием количества декстринов, мальтозы и моносахаридов. Именно поэтому мальтоза, содержащаяся в значительном количестве в прорастающем зерне, получила название солодового сахара. Накоплением под действием амилазы значительных количеств декстринов объясняются низкие хлебопекарные качества муки, полученной из проросшего зерна.



Шульце Эрнст
(1840—1912)

Необходимо отметить, что при прорастании семян, клубней и луковиц происходит не только гидролитическое расщепление крахмала и инулина с образованием соответствующих растворимых углеводов, но также накопление сахарозы, происходящее благодаря действию трансгликозилирующих ферментов.

Прорастание семян сопровождается также глубоким гидролитическим расщеплением гемицеллюлоз, превращающихся под действием соответствующих ферментов (гемицеллюлаз)

в моносахариды. В течение длительного времени предполагали, что гемицеллюлозы, содержащиеся в некоторых семенах в очень больших количествах (например, у бобовых), являются веществами, не принимающими участия в обмене веществ. Однако исследования выдающегося швейцарского биохимика Эрнста Шульце показали, что гемицеллюлозы представляют собою весьма подвижную форму углеводов, мобилизуемую при прорастании семян и легко превращающуюся в сахара. Так, например, при прорастании семян желтого люпина гидролизуется и используется на дыхание и для построения тканей ростка около 90% гемицеллюлоз, дающих при гидролизе глюкозу, и около 96% полисахаридов, представляющих собою полимеры галактозы. Ферменты, катализирующие гидролиз гемицеллюлоз — гемицеллюлазы, найдены в прорастающем зерне, а также у некоторых бактерий и плесневых грибов.

Участие гемицеллюлоз в углеводном обмене растений показано также при изучении процессов, происходящих во время созревания зерна. До недавнего времени предполагали, что в созревающем зерне образование запасных углеводов — крахмала и гемицеллюлоз — происходит только за счет притекающих в зерно из листьев растворимых углеводов—сахаров и левулёзанов (см. табл. 17). Однако А. М. Палеевым установлено, что при созревании ржаного зерна происходит также неуклонное уменьшение сухого вещества стебля и одновременное нарастание сухой массы колоса. Аналогичная картина наблюдается также для листьев, с той лишь разницей, что уменьшение абсолютно сухого веса листа начинается уже со времени колошения.

Проведенные анализы отдельных групп углеводов показали, что по мере созревания колоса в листе и соломе происходит снижение абсолютного содержания клетчатки, гемицеллюлоз и лигнина, используемых на построение крахмала и гемицеллюлоз зерна. Этот процесс Палеев называет раздревеснением. Таким образом, накопление крахмала и гемицеллюлоз в созревающем зерне идет не только за счет сахаров, образующихся в листьях при фотосинтезе, но и за счет растворимых углеводов, образующихся из клетчатки и гемицеллюлоз, которые содержатся в клеточных стенках листа и соломы. Аналогичный процесс «перекачки» органических веществ из стеблей и листьев в клубни происходит на последних стадиях развития картофеля — накопление в клубнях крахмала и белка сопровождается уменьшением абсолютного количества органических веществ в ботве.

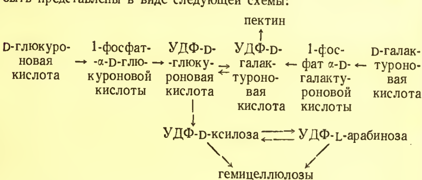
Возникает вопрос — каковы ферментативные реакции, лежащие в основе биосинтеза полисахаридов, образующих клеточные стенки растений, — клетчатки, хитина, различных гемицеллюлоз, а также пектиновых веществ.

В настоящее время можно считать установленным, что биосинтез этих полисахаридов происходит путем реакций перегликозилирования при участии определенных нуклеотидов. Так, в отно-

шении клетчатки с полной определенностью установлено, что ее синтез у хлопчатника, пшеницы и некоторых бактерий идет не через целлобиозу, а непосредственно из глюкозы. Далее показано что бесклеточные экстракты, полученные из бактерий *Acetobacter xylinum*, образующих значительные количества клетчатки, обладают способностью синтезировать эту последнюю из глюкозы в присутствии АТФ. Наконец установлено, что бесклеточные ферментные препараты, выделенные из *Acetobacter xylinum*, катализируют синтез клетчатки из уридиндифосфатглюкозы в присутствии целлодекстринов — растворимых высокомолекулярных продуктов ферментативного расщепления клетчатки. Происходящая при этом реакция синтеза клетчатки необратима и идет следующим образом:

$$\text{УДФГ} + (\text{глюкоза})_n \rightarrow \text{УДФ} + (\text{глюкоза})_{n+1}.$$

Биосинтез гемицеллюлоз и пектиновых веществ в растениях также осуществляется при участии различных ферментных систем, коферментами которых являются нуклеотиды, в частности уридиндифосфат, а исходным материалом — D-глюкуроновая и D-галактуроновая кислоты. Ферментативные превращения, лежащие в основе биосинтеза гемицеллюлоз и пектиновых веществ, могут быть представлены в виде следующей схемы:



В растениях найдены все ферменты, катализирующие отдельные реакции, показанные на этой схеме, а также уридиндифосфатгалактуроновая кислота. Так, например, из молодых побегов спаржи выделен фермент, который катализирует перенос остатка ксилозы с уридиндифосфатксилозы на низкомолекулярные олигосахариды, состоящие из ксилозы.

В отношении биосинтеза хитина имеются данные, полученные при изучении этого процесса у плесневого гриба *Neurospora crassa*. Эти данные показывают, что синтез хитина также происходит путем реакции ферментативного переглюкозилирования. Из мицелия этого гриба выделен ферментный препарат, катализирующий синтез хитина из уридиндифосфат-N-ацетилглюкозамина.

Биосинтез маннана, входящего в состав клеточных стенок дрож-

жей и некоторых плесневых грибов, происходит при участии другого нуклеотида, а именно гуанозиндифосфатманнозы, которая является источником остатков маннозы, потребляемых на синтез молекулы маннана.

Гуанозиндифосфатманноза найдена в свободном виде в пекарских дрожжах, плесневых грибах и в грибе *Eremothecium ashbyii*.

Таким образом, на ряде примеров, рассмотренных в данной главе, мы могли убедиться в том, что биосинтез различных олигосахаридов и полисахаридов — сахарозы, трегалозы, маннана, хитина, декстрана, левулезанов, гемицеллюлоз, пектина и клетчатки — происходит благодаря ферментативным реакциям трансгликозилирования, в которых роль коферментов и источников остатков того или иного сахара играют различные нуклеотиды.

Рассматривая основные закономерности, лежащие в основе превращений углеводов в растениях, необходимо отметить, что у некоторых растений роль моносахаридов играют сорбит, дульцит или маннит, роль тростникового сахара — дисахарид трегалоза и роль крахмала — гликоген. Так, например, дульцит в больших количествах накапливается в листьях гуттаперченосного кустарника бересклета; содержание в них дульцита бывает настолько велико, что иногда он выступает на поверхности листьев в виде твердых выделений. Сорбит играет важную роль в углеводном обмене некоторых плодов и ягод, например груш и слив, в которых он имеется в значительных количествах.

Маннит содержится в больших количествах в созревающих плодах маслины; он исчезает по мере созревания и накопления масла. Очень большие количества маннита накапливаются в заразихе, паразитирующей на корнях подсолнечника, а также в некоторых бурых водорослях, из которых его можно получать в промышленном масштабе. Особенно высоким содержанием маннита отличаются грибы. Так, например, в шампиньоне совершенно не содержится моносахаридов, и растворимые углеводы представлены исключительно маннитом и трегалозой. При медленном подсыхании грибов происходит превращение трегалозы в маннит.

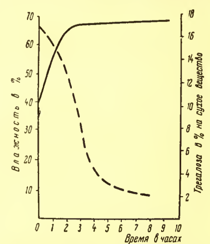


Рис. 67. Изменение содержания трегалозы в дрожжах при сушке:

пунктирная линия — влажность, сплошная линия — содержание трегалозы

Главным запасным углеводом грибов является гликоген. Особенно велико его содержание в дрожжах — оно достигает иногда 40% при расчете на сухое вещество. Гликоген чрезвычайно легко подвергается различным превращениям; так, например, при высушивании дрожжей содержание его снижается и одновременно накапливается трегалоза.

Нарастание содержания трегалозы, происходящее в процессе сушки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, показано на рис. 67.

В плодовых телах шампиньона, особенно в условиях анаэробиоза, гликоген легко превращается в маннит.

По-видимому, процесс взаимопревращения трегалозы и гликогена у грибов, так же как и процесс взаимопревращения крахмала и сахарозы у высших растений, происходит путем ферментативного трансгликозилирования. Во всяком случае, для животных тканей и для дрожжей показано, что гликоген синтезируется из уридиндифосфатглюкозы именно путем трансгликозилирования.

ЛИТЕРАТУРА

Бархаш А. П. Исследования в области апотомического превращения глюкозы. Сб. «Углеводы и углеводный обмен в животном и растительном организмах», стр. 97. Изд. АН СССР, М., 1959.

Кизель А. Р. и Кретович В. Л. Фруктоза и фруктозиды в обмене растения. Сб. «Биохимия и микробиология пшеницы». Труды Всес. н.-и. ин-та зерна и продуктов его переработки, вып. 13, 1934.

Кизель А. Р. и Яцына Р. А. К вопросу об образовании пектиновых веществ в растении. «Бюл. Моск. о-ва испыт. природы». Отд. биол., т. 45 (6), стр. 441, 1936.

Курсанов А. Л. Биологический синтез дисахаридов. «Успехи биологической химии», т. 2, стр. 220, Медгиз, М., 1954.

Курсанов А. Л. Синтез и накопление сахарозы у сахарной свеклы. «Ботан. ж.», т. 39, № 4, стр. 482, 1954.

Лисицын Д. И. О переходе «сахароза ⇄ крахмал» в растительных клетках. «Биохимия», т. 8, вып. 4, стр. 177, 1943.

Оканенко А. С. Накопление и передвижение сахаров у различных рас и сортов *Beta vulgaris*. «Научн. зап. по сах. пром.», год изд. 13-й, № 4, агроном, вып., стр. 46, 1936.

Опарин А. И. Значение инвертазы корня в процессе сахаронакопления у различных сортов свеклы. «Биохимия», т. 2, вып. 2, стр. 135, 1937.

Опарин А. И. и Курсанов А. Л. Ферментативный синтез сахарозы. «Журнал сахарной промышленности», т. 5, № 7—8, стр. 333, 1931.

Опарин А. И. и Шапиро Е. О. Превращение углеводов в свекловичном корне при его хранении и вторичном прорастании. «Биохимия», т. 1, вып. 1, стр. 35, 1936.

Рубин Б. А. и Арциховская Е. В. О роли сахарозы в углеводном обмене растения. «Докл. АН СССР», т. 60, № 5, стр. 841, 1948.

Сисакян Н. М. и Нуждин Н. И. Особенности сахаронакопления у сахарной свеклы в зависимости от сроков посева. «Биохимия», т. 9, вып. 4, стр. 141, 1944.

Степаненко Б. Н., Розенфельд Е. Л., Петрова А. Н. и Котельникова А. В. О крахмале и его образовании в картофеле. «Успехи соврем. биол.», т. 32, вып. 2 (5), стр. 193, 1951.

Углеводы и углеводный обмен. Изд. АН СССР, М., 1962.

Усманов Х. У. и Шаткина В. П. Полная кинетика синтеза целлюлозы в хлопковом волокне и влияние на нее некоторых факторов. Сб. «Химия хлопчатника», стр. 5, Гос. Изд. Узбекской ССР, Ташкент, 1959.

Algranati I. D. a. Cabib E. Uridine Diphosphate D-Glucose-Glycogen Glucosyltransferase from Yeast. «J. Biol. Chem.», 237, 1007, 1962.

Algranati I. D. a. Cabib E. The Synthesis of Glycogen in Yeast «Biochim. et biophys. acta», 43, 142, 1960.

Anderson J. D., Andrews P. a. Hough L. The Biosynthesis and Metabolism of Polyols. Sorbitol (D-glucitol) of Plum Leaves. «Biochem. J.», 81, 149, 1961; 2. The Metabolism of C^{14}-Labelled D-Glucose, D-Glucuronic acid and D-Glucitol (Sorbitol) by Plum Leaves. «Biochem. J.», 84, 140, 1962.

Biological Transformation of Starch and Cellulose. Biochemical Society Symposia, Nr. 11, Cambridge University Press, 1953.
Chakravorty M. a. Burma D. Enzymes of the Pentose Phosphate Pathway in the Mung-Bean Seedling. «Biochem. J.», 73, 48, 1959.
Claiton R. A. Pentose Cycle Activity in Cell-Free Extracts of Tobacco Leaves and Seedlings. «Arch. Biochem. and Biophys». 79, 111, 1959.
Dedonder R. Les glucides du topinambour. Contribution a l'étude de leur structure et de leur biochimie Thése, Paris, 1952.
Edelman J. The Formation of Oligosaccharides by Enzymic Transglycosylation. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 17, 189, 1956.
De Fekete M.A.R., Leloir L. F. a. Cardini C. E. Mechanism of Starch Biosynthesis. «Nature», 187, 918, 1960.
Gibbs M. Metabolism of Carbon Compounds. «Annual Rev. Plant Physiol.», 10, 329, 1959.
Hanbuch der Pflanzenphysiologie. Herausgegeben von W. Ruhland, Band 6; Aufbau, Speicherung, Mobilisierung und Umbildung der Kohlenhydrate; J. Springer V-g, 1958.
Hassid W. Z. The Biosynthesis of Polysaccharides from Nucleoside Diphosphate Sugars. «The Structure and Biosynthesis of Macromolecules», «Biochem. Soc. Sympos.», № 12, 63, 1962.
Hassid W. Z., Neufeld E. F. a. Feingold D. S. Sugar Nucleotides in the Interconversion of Carbohydrates in Higher Plants. «Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.», 45, 905, 1959.
Kessler G., Neufeld E. F., Feingold D. S. a. Hassid W. Z. Metabolism of D-Glucuronic Acid and D-Galacturonic Acid by *Phaseolus aureus* Seedlings. «J. Biol. Chem.», 236, 308, 1961.
March C. A., Reactions of Uridine Diphosphate Sugars Catalyzed by Enzymes of French-Bean Leaves. «Biochim. et Biophys. acta», 44, 359, 1960.
Neufeld E. F. a. Feingold D. S. Isolation of Uridine Diphosphate Galacturonic Acid from Seedlings of *Phaseolus aureus*. «Biochim. et Biophys. acta», 53, 589, 1961.
Neufeld E. F., Feingold D. S., Ilves S. M., Kessler G a. Hassid W. Z. Phosphorylation of D-Galacturonic Acid by Extracts from Germinating Seeds of *Phaseolus aureus*. «J. Biol. Chem.», 236, 3102, 1962.
Recondo E. a. Leloir L. Adenosine Diphosphate Glucose and Starch Synthesis. «Biochem. and Biophys. Res. Communs», 6, 85, 1961.
Schlubach H. Über Kohlenhydratstoffwechsel der Getreidearten. «Experientia», 9, Nr 6, 230, 1953.
Stacey M. Enzymic Synthesis of Polysaccharides. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 15, 301, 1954.
Turner D. a. Turner J. F. The Hydrolysis of Glucose Monophosphates by a Phosphatase Preparation from Pea Seeds. «Biochem. J.», 74, 468, 1960.
Whelan W. J. Recent Advances in the Biochemistry of Glycogen and Starch. «Nature», 190, 954, 1961.

Глава X

БРОЖЕНИЕ И ДЫХАНИЕ

Каждый организм для осуществления процессов, совокупность которых составляет обмен веществ, а следовательно, для поддержания жизни, нуждается в постоянном и непрерывном притоке энергии. Источником этой энергии является процесс диссимиляции, процесс преобразования и распада веществ в организме.

Как мы уже указывали ранее, у целого ряда микроорганизмов источником энергии, необходимой для поддержания обмена веществ и жизни, является окисление того или иного неорганического вещества. У железобактерий — это окисление соединений железа, у других микробов — это окисление соединений марганца, у различных серобактерий — это окисление сероводорода и других соединений серы, у водородных бактерий — окисление водорода, у нитрификаторов — окисление аммиака в азотистую кислоту и этой последней — в азотную кислоту. Все эти микроорганизмы используют энергию, освобождающуюся при окислении данного неорганического соединения, прежде всего для осуществления реакций, лежащих в основе ассимиляции углекислоты и синтеза органического вещества, т. е. для осуществления процесса хемосинтеза. Все остальные организмы для поддержания своей жизни используют ту энергию, которая освобождается во время диссимиляции органических веществ, в первую очередь сахара, образовавшегося в процессе фотосинтеза и являющегося, по образному выражению Тимирязева, как бы «консервом» энергии солнечных лучей. Диссимиляция сахара в организме происходит либо анаэробно, т. е. путем брожения, либо аэробным путем, т. е. благодаря процессу дыхания.

Необходимо подчеркнуть, что диссимиляция органического вещества в процессе дыхания или брожения является не только источником энергии для данного организма, но также источником различных соединений, образующихся в качестве промежуточных продуктов брожения или дыхания и используемых организмом для многочисленных синтетических реакций.

Поскольку свободный кислород, имеющийся на нашей планете, образовался в результате процесса фотосинтеза, возникшего на

более поздних этапах развития жизни на Земле, совершенно очевидно, что анаэробная диссимиляция углеводов, т. е. процесс брожения, является более древним типом диссимиляции, чем процесс дыхания. На это указывает также то, что по сравнению с дыханием брожение является энергетически значительно менее выгодным процессом, поскольку для получения одного и того же количества энергии при брожении расходуется значительно больше сахара, чем при дыхании.

БРОЖЕНИЕ

Практически наиболее важным процессом брожения является спиртовое брожение, лежащее в основе целого ряда пищевых производств — виноделия, пивоварения, изготовления спирта. Спиртовое брожение осуществляется благодаря жизнедеятельности ряда микроорганизмов. Наиболее типичными организмами спиртового брожения являются дрожжи. Среди них наибольшее значение имеют истинные дрожжи — организмы, принадлежащие к роду *Saccharomyces*. К числу организмов, вызывающих при определенных условиях спиртовое брожение, принадлежат и так называемые дрожжеподобные организмы — *Monilia*, *Oidium*, а также некоторые из плесневых грибов, как, например, *Mucor*. Как мы указывали уже ранее, вопрос о природе брожения в свое время был предметом ожесточенных споров, затрагивавших основные философские проблемы биологии. Этот вопрос стал особенно остро дебатироваться после знаменитых работ Луи Пастёра, который глубоко и всесторонне исследовал различные брожения и вызывающие их микроорганизмы. Пастёр своими опытами обосновывал точку зрения, согласно которой брожение может вызываться только лишь живыми микроорганизмами и является неотъемлемым атрибутом жизни. Противоположная, материалистическая точка зрения, наиболее последовательным представителем которой являлся Либих, исходила из мысли о том, что процесс брожения вызывается «неорганизованными» ферментами, выделяемыми данным бродильным организмом. Представители этого второго направления в изучении брожения указывали, что ферменты, вызывающие брожение, могут быть выделены из клеток, получены в виде растворов и исследованы обычными методами химического анализа. Необходимо отметить, что Пастёр предпринимал неоднократные попытки получить бесклеточный дрожжевой сок, который бы мог вызывать спиртовое брожение. С этой целью он подвергал дрожжи действию высоких давлений, растирал их с песком. Однако его опыты, так же как и опыты других исследователей в этом направлении, не увенчались успехом. Будучи гениальным экспериментатором, Пастер, однако, не сумел подняться над уровнем фактов, бывших в то время в его распоряжении, и дать правильную, материалистическую трактовку вопроса.

Вопрос о природе брожения был окончательно решен в пользу материалистической точки зрения значительно позже — в 1897 г. немецким биохимиком Э. Бухнером. Необходимо отметить, что



Лебедев
Александр Николаевич
(1881—1938)

еще в 1871 г. русская исследовательница М. М. Манассеина опубликовала работу «К учению об алкогольном брожении», в которой она, на основании своих опытов с убитыми дрожжами, пришла к заключению, что «живые дрожжевые клетки не являются необходимыми для спиртового брожения. Более чем вероятно, что специфические ферменты алкогольного брожения образуются в дрожжевых клетках так же, как эмульсин в сладком миндале». Очень большую роль в развитии исследований, посвященных выяснению сущности спиртового брожения, сыграл простой и удобный метод получения бесклеточных ферментных экстрактов из дрожжей, предложенный одним из выдающихся русских биохимиков — профессором Московского университета А. Н. Лебедевым.

Как это впервые было установлено Гей-Люссаком, суммарно спиртовое брожение может быть выражено следующим уравнением:

$$\underset{\text{гексоза}}{C_6H_{12}O_6} = \underset{\text{углекислый газ}}{2CO_2} + \underset{\text{этиловый спирт}}{2C_2H_5OH}$$

При этом должно выделиться 28 килокалорий тепла на одну грамм-молекулу сброженной гексозы. Опыты М. Рубнера показали, что фактически при брожении выделяется в виде тепла 24 *ккал*; таким образом, экспериментально найденная величина теплового эффекта спиртового брожения хорошо согласуется с теоретически вычисленной величиной.

Приведенное суммарное уравнение спиртового брожения не отражает того факта, что обычно, кроме главных продуктов брожения — этилового спирта и углекислого газа, образуются также некоторые другие вещества. Так, например, при спиртовом брожении в незначительном количестве всегда образуются янтарная кислота и так называемые сивушные масла — смесь амилового, изоамилового, бутилового и других спиртов; в ничтожных количествах образуются также уксусный альдегид, глицерин и некоторые, пока

еще совершенно недостаточно изученные соединения, от наличия ничтожных количеств которых зависит специфический аромат вина, пива и других спиртных напитков.

Разные сахара́ сбраживаются с различной скоростью. Наиболее легко подвергаются сбраживанию глюкоза и фруктоза, медленнее — манноза и еще медленнее — галактоза; пентозы дрожжами не сбраживаются; они могут сбраживаться лишь некоторыми плесневыми грибами из рода *Fusarium*. Что касается дисахаридов, то весьма хорошим субстратом спиртового брожения являются сахароза и мальтоза. Однако оба эти сахара сбраживаются лишь после предварительного гидролиза на составляющие их моносахариды. Указания о том, что мальтоза может сбраживаться без предварительного гидролиза, не подтвердились. Лактоза сбраживается лишь некоторыми особыми видами дрожжей, так называемыми лактозными дрожжами, обладающими β-галактозидазой и способными поэтому гидролизовать лактозу на глюкозу и галактозу. Дрожжи сбраживают весьма высокие концентрации сахара, достигающие 60%. Они выносят также значительные концентрации спирта, достигающие 10—14%; при этом необходимо отметить, что дрожжи более чувствительны к спирту при высоких концентрациях сахара и при повышенных температурах.

В присутствии кислорода спиртовое брожение прекращается и дрожжи получают энергию, необходимую для их развития и жизнедеятельности, путем кислородного дыхания. При этом дрожжи тратят сахар значительно экономнее, чем в анаэробных условиях. Прекращение брожения под влиянием кислорода получило название «эффекта Пастёра».

Целый ряд микроорганизмов, называемых молочнокислыми бактериями, вызывает молочнокислое брожение, при котором из одной молекулы гексозы образуются две молекулы молочной кислоты:

$$C_6H_{12}O_6 = 2CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH.$$

При молочнокислом брожении на каждую грамм-молекулу сброженной гексозы выделяется 22,5 *ккал* тепла.

Молочнокислое брожение играет очень большую роль при производстве молочнокислых продуктов (простокваши, ацидофилина, кефира, кумыса), при изготовлении кваса, хлебных заквасок и «жидких дрожжей» для хлебопечения, при квашении капусты, огурцов, при силосовании кормов.

Все микроорганизмы, вызывающие молочнокислое брожение, разделяются на две большие группы. К первой группе принадлежат микроорганизмы, подобные *Streptococcus lactis*, являющиеся настоящими анаэробами и сбраживающие гексозы в точном соответствии с вышеприведенным суммарным уравнением молочнокислого брожения. Эти микроорганизмы получили название гомоферментативных молочнокислых бактерий. Ко второй группе ге-

тероферментативных молочнокислых бактерий принадлежат микроорганизмы, которые, кроме молочной кислоты, образуют значительные количества других продуктов, в частности уксусной кислоты и этилового спирта. Характерным представителем этой второй группы молочнокислых бактерий является микроб *Bacterium lactis aerogenes*, образующий молочную кислоту, уксусную кислоту, этиловый спирт, углекислый газ, водород и метан. Выход уксусной кислоты при сбраживании сахаров подобными микробами может превышать выход молочной кислоты.

Заметное содержание молочной и уксусной кислоты в ржаном тесте и ржаном хлебе объясняется тем, что при брожении ржаного теста наряду со спиртовым брожением происходит также молочнокислое брожение, при котором накапливаются как молочная, так и уксусная кислоты.

Одновременное протекание в ржаном тесте процессов спиртового и молочнокислого брожения объясняется присутствием в закваске как дрожжей, вызывающих спиртовое брожение, так и молочнокислых бактерий, вызывающих молочнокислое брожение. Подобного рода совместное существование дрожжей и молочнокислых бактерий, оказывающих друг на друга благотворное влияние, наблюдается в целом ряде пищевых продуктов и полуфабрикатов — в хлебном квасе, кумысе, жидких хлебопекарных дрожжах, различных молочнокислых продуктах — айране, кавказском «мацони». Особенно хорошим примером подобного рода сожительства (симбиоза) дрожжей и молочнокислых бактерий являются кефир и так называемые «кефирные зерна», применяемые в качестве закваски при изготовлении кефира. В настоящее время молочная кислота широко применяется в пищевой, текстильной и кожевенной промышленности. Поэтому вопрос о наиболее совершенных промышленных схемах производства молочной кислоты имеет большое практическое значение. Особенно большие количества молочной кислоты образуются при сбраживании сахара некоторыми термофильными молочнокислыми микробами, подобными широко применяемому в пищевой промышленности *Termobacterium cereale* (по старой номенклатуре *Bacterium Delbrückii*).

Исключительный интерес представляет тот факт, что одни молочнокислые микробы образуют оптически недеятельную молочную кислоту, другие — D-форму и третьи — L-форму. Более того, один и тот же микроб при культивировании его на разных питательных средах образует различные формы молочной кислоты. Так, например, молочнокислая бактерия *Lactobacillus casei* при развитии на моносахаридах и лактозе образует правовращающую молочную кислоту, а при развитии на сахарозе и мальтозе — оптически недеятельную D-, L-форму.

Третьим важнейшим видом брожений является м а с л я н о к и с л о е б р о ж е н и е. Большинство микроорганизмов, вызывающих маслянокислое брожение, являются анаэробами. Некото-

рые из них принадлежат к группе облигатных анаэробов, т. е. таких организмов, которые могут жить только лишь в отсутствии кислорода и для которых последний является ядом.

Суммарное уравнение маслянокислого брожения имеет следующий вид:

$$C_6H_{12}O_6 = CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH + 2CO_2 + 2H_2.$$

Однако, если заметные количества побочных продуктов брожения могут образовываться при спиртовом и молочнокислом брожениях, то при маслянокислом брожении количество этих побочных продуктов особенно велико. Наряду с масляной кислотой, углекислым газом и водородом при маслянокислом брожении образуются этиловый спирт, а также молочная и уксусная кислоты.

Маслянокислое брожение в природных условиях происходит в гигантских масштабах на дне болот, в заболоченных почвах, в различного рода илах и всех тех местах, куда ограничен доступ кислорода и где благодаря деятельности маслянокислых бактерий разлагаются огромные количества органического вещества.

Гомоферментативное молочнокислое, спиртовое и маслянокислое брожения являются основными типами брожений. Все другие виды брожений представляют собой комбинацию этих трех основных типов. Так, например, гетероферментативное молочнокислое брожение, а также пропионовокислое брожение, играющее важную роль при производстве сыров и сопровождающееся накоплением пропионовой кислоты, уксусной кислоты и углекислого газа, могут рассматриваться как комбинация гомоферментативного молочнокислого и спиртового брожений. Точно так же ацетоноэтиловое брожение является комбинацией спиртового и маслянокислого брожений. Так называемое брожение клетчатки и брожение пектиновых веществ являются разновидностями маслянокислого брожения.

Три главных типа брожения органически связаны между собой. Об этом свидетельствуют многочисленные экспериментальные данные, полученные при исследовании промежуточных продуктов брожений. Более того, эти данные показывают, что брожения находятся в самой тесной органической связи с нормальным кислородным дыханием.

Глубокая и тесная взаимосвязь процессов брожения и дыхания будет подробно рассмотрена нами далее, в разделе, посвященном химизму брожений и дыхания (стр. 403).

ДЫХАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Важнейшим источником энергии у высших растений и микроорганизмов является процесс дыхания. Процесс дыхания, как и процесс брожения, — это не только источник энергии, используемой для осуществления разнообразных синтетических реакций, а также процессов роста и движения, но и источник многочислен-

ных лабильных соединений, которые образуются в качестве промежуточных продуктов дыхания и вместе с тем служат исходным материалом для осуществления указанных синтетических реакций.

Баланс происходящих при аэробном дыхании химических превращений может быть выражен следующим равенством:

$$C_6H_{12}O_6+6O_2=6H_2O+6CO_2.$$

Полное окисление в процессе дыхания одной грамм-молекулы гексозы сопровождается выделением энергии, соответствующим 674 большим калориям.

Приведенное уравнение аэробного (или кислородного) дыхания растений характеризует лишь баланс веществ при дыхании. Оно не дает никакого представления о тех многочисленных промежуточных ферментативных реакциях, которые разыгрываются в процессе дыхания. Известные указания в смысле характера этих реакций могут быть получены путем изучения происходящего при дыхании газообмена. Если процесс аэробного дыхания данного растительного организма происходит в точном соответствии с приведенным выше уравнением, то отношение объемов выделяемого углекислого газа и поглощаемого кислорода, называемое дыхательным коэффициентом CO_2/O_2, равняется 1. Однако очень часто дыхательный коэффициент может заметно отклоняться от этой величины. Так, например, если одновременно с аэробным дыханием происходят какие-либо процессы, сопровождающиеся потреблением дополнительных количеств кислорода, то дыхательный коэффициент будет меньше 1. Такие случаи имеют место, например, при созревании плодов, когда значительное количество кислорода потребляется на образование накапливающихся в плодах органических кислот. Дыхательные коэффициенты значительно меньшие, чем 1, наблюдаются также у прорастающих масличных семян. Это происходит вследствие того, что процесс прорастания таких семян сопровождается окислением весьма бедных кислородом жирных кислот и превращением жира в сахар, происходящим с потреблением значительного количества кислорода. При созревании масличных семян, когда происходит обратный процесс образования жира из углеводов, дыхательный коэффициент превышает 1. Это является следствием того, что часть потребляемого на дыхание кислорода заимствуется из углеводов.

Высокие дыхательные коэффициенты наблюдаются также в тех случаях, когда данный растительный организм выделяет значительное количество углекислого газа, поглощая вместе с тем немного кислорода. Такую картину мы можем наблюдать на ранних этапах прорастания некоторых семян, плотная оболочка которых недостаточно проницаема для кислорода. В таких семенах наряду с аэробным дыханием происходит также процесс спиртового брожения, который прекращается лишь после того, как развивающийся корешок прорывает оболочку. Высокие дыхательные коэффици-

енты наблюдаются также при дыхании дрожжей, у которых одновременно с кислородным дыханием происходит спиртовое брожение. Дыхательные коэффициенты, значительно превышающие единицу наблюдаются также в тех случаях, когда дыхание происходит за счет соединений, более богатых кислородом, чем сахар. Такими соединениями, являются, например, некоторые органические кислоты — щавелевая, винная и другие.

Приведенное выше уравнение аэробного дыхания растений показывает, что дыхание сопровождается следующими явлениями:

1) уменьшением веса данного растительного организма, происходящим вследствие расходования гексоз;

2) изменением состава окружающей растение атмосферы, происходящим вследствие поглощения кислорода и выделения углекислого газа;

3) выделением влаги;

4) выделением тепла.

Уменьшение сухого веса растительных организмов, происходящее вследствие дыхания, может достигать очень больших величин. Оно особенно велико у таких продуктов растительного происхождения, как прорастающее зерно или же хранящиеся овощи. Так, например, по данным Ж. Б. Буссенго, прорастающие зерна, отличающиеся очень интенсивным даханием, происходящим за счет содержащихся в зерне органических веществ, теряют следующие количества своего сухого веса:

Таблица 18

Убыль в весе прорастающих зерен

Объект	Сухой вес зерна в г	Сухой вес проростков в г	Убыль веса (в % к исходному весу зерна)
46 зерен пшеницы	1,665	0,712	57
1 зерно кукурузы	0,529	0,290	45
40 зерен гороха	2,237	1,076	52

То обстоятельство, что вследствие дыхания происходит расходование сухого вещества целого ряда продуктов растительного происхождения при их переработке или хранении, приводит к необходимости установления определенных норм потерь. Понятно, что потери, происходящие при хранении того или иного пищевого сырья растительного происхождения, могут являться следствием ряда причин, но среди них весьма важной является процесс дыхания.

Происходящее в результате дыхания изменение состава воздуха может быть в некоторых случаях весьма значительным. Так, например, в элеваторах с хранящимся зерном содержание углекислого газа в межзерновом пространстве может достигать 13% (вместо обычных 0,03%), а содержание кислорода соответственно может понижаться почти до нуля. Точно так же значительные изменения

состава воздуха происходят в массе хранящихся овощей — в кагатах сахарной свеклы, буртах картофеля и т. д.

Вызываемое дыханием растительных тканей выделение влаги и тепла может являться причиной дальнейшего усиления процесса дыхания. Это будет происходить в том случае, если масса хранящегося сырья не будет достаточно хорошо проветриваться для удаления накапливающихся в ней водяных паров и понижения ее температуры.

Разогревание масс растительного сырья, происходящее вследствие энергичного дыхания, может быть весьма значительным. Так, например, прорастающее пшеничное зерно выделяет в виде тепла следующие количества энергии:

День прорастания	*Энергия, выделяемая в виде тепла (в килокалориях на 1 кг при 25°)*
2	363
3	540
4	2938
5	3216
6	4341

Тепло, выделяемое в результате дыхания прорастающего зерна, является причиной быстрого и значительного повышения температуры в ворохах солода. Для поддержания в массе прорастающего солода необходимой температуры, обеспечивающей правильный режим солодоращения, солод подвергают перелопачиванию, продуванию холодным воздухом или же ворошению, как это имеет место в барабанных солодовнях. Значительное количество тепла выделяют хранящиеся плоды и овощи. Так, например, яблоки и груши образуют за одни сутки на тонну плодов от 247 до 401 *ккал*.

Поскольку интенсивность дыхания растительных масс чрезвычайно сильно зависит от температуры, понятно, что в разное время года интенсивность вентиляции должна быть разная — бо́льшая в теплое время года и меньшая в холодное. С. М. Прокошев приводит следующие данные, характеризующие выделение тепла хранящимися картофельными клубнями: 19,0 *ккал* на 1 *т* в час в октябре, 7,2 *ккал* — в феврале и 24,6 *ккал* на 1 *т* картофеля за 1 час в апреле.

Интенсивное выделение тепла растительными объектами, обнаруживающими энергичное дыхание, является причиной столь часто наблюдаемого самосогревания различных продуктов растительного происхождения: зерна, овощей, плодов, табака, сена и т. д. Вследствие низкой теплопроводности этих растительных масс, близкой к теплопроводности дерева, при недостаточном их вентилировании и охлаждении происходит значительное накопление тепла. Это в свою очередь вызывает резкое усиление интенсивности дыхания данного растительного сырья, а следовательно, повышение

образоваиия тепла. Таким образом, процесс разогревания растительных масс имеет автокаталитический характер. Повышенне температуры при этом может достнгать очень больших величин (60—90° С) и прнводнть к полной порче значительных количеств растительного сырья.

Необходнмо, однако, подчеркнуть, что самосогревание продуктов растительиого происхождения — зерна, овощей, табака, сена н т. д. — вызывается не только эиергичным дыхаинем тканей самого растнтельного продукта, но также иитенсивным развитием термофильных мнкроорганнзмов, особенно хорошо развивающнхся при повышеиных температурах. Эти мнкроорганнзмы обладают нсключнтельио высокой иитеисивиостью дыхаиия и образуют поэтому особенио большие количества тепла.

Интенсивность дыхания того или иного объекта учитывают на основе количественного определения выделяемого углекислого газа или поглощаемого кислорода. Различные продукты растительного происхождения, а также ткани растений резко различаются между собой по интенсивности дыхания. Наиболее слабым дыханием обладают сухие семена, более интенсивно дышат листья, а также сочные плоды и овощи. Наибольшую интенсивность дыхания обнаруживают микроорганизмы, особенно плесневые грибы. Ниже приведены данные, характеризующие интенсивность дыхания различных объектов растительного происхождения:

Объект	*Интенсивность дыхания (в миллилитрах CO_2 на 1 г сухого вещества за 24 часа)*
Сухое зерно пшеннцы н ржи	0,1 — 0,02
Клубнн картофеля	0,12
Плоды томатов	5 — 25
Яблоки	4,8 — 11,4
Прорастающне семена горчицы . . .	58
Лнстья табака	65
Плесневый грнб (2 - дневная культура)	1750 — 1870
Тот же плесиевый гриб (4 - дневиая культура)	276

Из приведенных данных видно, что плесневые грибы обладают по сравнению с другими растительными объектами колоссальной интенсивностью дыхания. Именно поэтому интенсивность дыхания какой-либо хранящейся растительной массы (например, зерна, табака и т. п.) и выделение ею углекислого газа резко возрастают, если начинается плесневение.

Приведенные данные указывают вместе с тем на одно весьма важное обстоятельство: старая культура плесневого гриба обнаруживает значительно меньшую интенсивность дыхания, чем молодая культура. Это объясняется тем, что интенсивность дыхания данной растительной ткани зависит от ее возраста. Особенно энергичным

дыханием отличаются молодые, растущие ткани растений. Установлено, что имеется чрезвычайно тесная связь между ростом растительных тканей и их дыханием: чем интенсивнее при прочих равных условиях растет данная ткань, тем энергичнее она дышит, и наоборот. Эта связь может быть установлена не только путем прямых измерений интенсивности дыхания и скорости роста данной ткани (например, корешков или проростков), но также путем воздействия на молодую растущую ткань веществами, тормозящими дыхание. При этом происходит не только угнетение дыхания, но также задержка роста. Подобного рода торможение роста колеоптилей овса было показано Х. С. Коштоянцем с помощью воздействия на колеоптили фтористым натром и монойодуксусной кислотой, которые подавляют некоторые важные ферментативные реакции, происходящие на первых этапах дыхания.

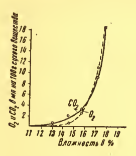


Рис. 68. Зависимость интенсивности дыхания семян проса от влажности

Академик В. И. Палладин установил, что интенсивность дыхания растительных тканей зависит от количества активной протоплазмы в клетках. Чем моложе данная ткань, тем богаче протоплазмой составляющие ее клетки. По мере развития и старения ткани содержание протоплазмы в ней уменьшается и вследствие этого понижается также интенсивность дыхания. Понятно, что при этом происходят также и глубокие качественные изменения протоплазмы.

Интенсивность дыхания растений и отдельных растительных тканей или органов зависит от целого ряда факторов. Одним из важнейших среди них является содержание влаги в данном объекте. Так, например, сухое зерно обладает ничтожной интенсивностью дыхания. Однако стоит только это зерно увлажнить, как интенсивность его дыхания резко возрастет. Это ясно видно на рис. 68, на котором (по В. Кретовичу) показана зависимость интенсивности дыхания семян проса от содержания в них влаги. Зерно с влажностью 14—15,5% дышит в 2—4 раза интенсивнее, чем зерно сухое, имеющее влажность меньшую, чем 14%; сырое зерно (с влажностью, превышающей 17%) дышит в 20—30 раз энергичнее сухого. Именно поэтому сухое зерно так хорошо хранится и не подвергается самосогреванию, в то время как зерно влажное, обнаруживающее чрезвычайно большую интенсивность дыхания, может очень быстро согреться и испортиться. Зерно пшеницы, ржи, а также семена бобовых культур (за исключением сои) начинают резко повышать интенсивность дыхания после того как влажность семян превысит 14—15%.

Масличные культуры резко отличаются от всех зерновых культур в том отношении, что их семена начинают весьма интенсивно

дышать уже при влажности, превышающей 8—9%. Это объясняется очень высоким содержанием жира в масличных семенах. Как известно, жиры являются гидрофобными веществами и поэтому не связывают воду. Если пересчитать содержание влаги в семенах масличных культур на так называемую «гелевую» часть, т. е. на сухое вещество семян, за вычетом жира, то влажность этой «гелевой» части будет равна той же величине, при которой начинается резкое возрастание интенсивности дыхания у бедных жиром семян, т. е. 14—15%.

Влажность семян, превышение которой приводит к резкому увеличению интенсивности дыхания, а следовательно, к самосогреванию и порче хранящихся семян, получила название «критической» влажности. Повышение интенсивности дыхания семян при увеличении влажности выше критической объясняется тем, что при величине влажности до 14—15% вода содержится в зерне в виде так называемой связанной воды. Как мы уже указывали ранее, связанная вода настолько прочно соединена с коллоидами, в первую очередь с белками, что не может играть роль растворителя и той среды, которая необходима для осуществления всех биохимических реакций в живом организме. При увеличении влажности выше 14—15% (или у масличных семян выше 8—9%) в семенах начинает появляться свободная вода, благодаря чему резко увеличивается скорость биохимических превращений, а следовательно, и скорость дыхания.

Вторым важнейшим фактором, от которого зависит интенсивность дыхания растений и растительных тканей, является температура. При повышении температуры интенсивность дыхания возрастает. В определенном интервале температур возрастание интенсивности дыхания растений подчиняется правилу Вант-Гоффа. Как известно, это правило заключается в том, что «температурный коэффициент» химических реакций, т. е. коэффициент, показывающий, во сколько раз увеличивается скорость данной реакции при повышении температуры на 10°С, равен 2—3. Так, например, в интервале температур от 12,5 до 32°С температурный коэффициент дыхания плодов равен 2,2. Близкие величины температурных коэффициентов наблюдаются также при дыхании зерна.

Как мы уже указывали выше, правило Вант-Гоффа применимо к процессу дыхания растения или какой-либо растительной ткани лишь в определенном интервале температур. Дальнейшее повышение температуры приводит к нарушению нормального строения и функционирования протоплазмы, к коагуляции белков, инактивированию ферментов и, в конечном счете, к отмиранию данного организма или ткани. Поэтому, если проследить влияние различных температур на дыхание какого-либо растительного организма, то можно установить, что по мере возрастания температуры интенсивность дыхания также увеличивается, достигает затем определенной максимальной величины, характерной для данного организма

или ткани, и затем начинает падать. Это ясно видно на рис. 69, на котором, по данным В. Кретовича и А. Прохоровой, показано влияние различных температур на интенсивность дыхания пшеничного зерна разной влажности. Из рисунка видно, что наиболее энергичное дыхание наблюдается при 50—55°С. Дальнейшее повышение температуры приводит к резкому понижению интенсивности дыхания зерна и его отмиранию.

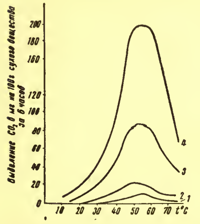


Рис. 69. Влияние температуры на интенсивность дыхания пшеничного зерна с влажностью 14% (*1*) 16% (*2*), 18% (*3*) и 22% (*4*)

Необходимо отметить, что указанная температура, при которой наблюдается наибольшая интенсивность дыхания зерна, характерна только лишь для небольших сроков пребывания зерна при данной температуре, порядка нескольких часов. Если же зерно оставить при этой оптимальной температуре (50 — 55°С) на более длительный срок, то оно начинает отмирать под действием этой повышенной температуры, в результате чего понижается активность дыхательных ферментов и интенсивность дыхания. Вместе с тем это понижение происходит тем быстрее, чем выше влажность зерна. Таким образом, оптимальная температура, при которой зерно дышит наиболее энергично, является непостоянной величиной, зависящей от других условий внешней среды.

Кроме влажности и температуры, существенное влияние на интенсивность дыхания растений и растительных тканей оказывает доступ к ним воздуха, их аэрация, а также содержание в воздухе углекислого газа и кислорода. Так, например, установлено, что усиленное вентилирование хранящейся зерновой массы заметно повышает интенсивность ее дыхания. Интенсивность дыхания различных плодов сильно уменьшается при повышении содержания в воздухе углекислого газа; такое же влияние оказывают при длительном воздействии повышенные концентрации углекислого газа на интенсивность дыхания влажного зерна. Углекислый газ не только тормозит дыхание различных растительных тканей, но оказывает на них ядовитое действие. Так, например, при длительном нахождении зерна в воздухе, содержащем повышенные концентрации углекислого газа, зерно постепенно теряет свою жизнеспособность и всхожесть. Именно поэтому хранящееся семенное зерно должно подвергаться систематическому проветриванию.

Интенсивность дыхания растительных тканей понижается не только вследствие увеличения содержания в воздухе углекислого газа, но также вследствие уменьшения концентрации кислорода. Наименьшая концентрация кислорода в воздухе, обеспечивающая нормальную величину дыхания, различна для разных растительных тканей. Так, например, для картофеля изменение содержания кислорода в воздухе от 100 до 6% не сказывается на интенсивности дыхания; лишь дальнейшее снижение содержания кислорода в воздухе приводит к уменьшению интенсивности дыхания клубней. У моркови понижение интенсивности дыхания начинает наблюдаться лишь после того, как содержание кислорода в воздухе становится меньше, чем 3,5%.

Повышение концентрации углекислого газа и понижение концентрации кислорода в воздухе вызывает не только уменьшение интенсивности дыхания растений, но также изменяет характер дыхания; в растительной клетке или ткани вместо обычного кислородного (аэробного) дыхания начинается процесс анаэробного (интрамолекулярного) дыхания, являющийся по существу процессом спиртового брожения.

АНАЭРОБНОЕ (ИНТРАМОЛЕКУЛЯРНОЕ) ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ

Анаэробное дыхание растений было открыто Пастером и особенно глубоко исследовано академиком С. П. Костычевым, польским физиологом Э. Годлевским и английским ученым Ф. Блекменом. Оно обычно протекает в соответствии с суммарным уравнением спиртового брожения:

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5OH + 2CO_2.$$

Из уравнения видно, что при анаэробном дыхании в качестве конечных продуктов образуются этиловый спирт и углекислый газ.

Количество энергии, выделяемой при анаэробном дыхании, составляет всего лишь 28,2 *ккал* на одну грамм-молекулу израсходованной гексозы. Таким образом, при анаэробном дыхании растение должно израсходовать гораздо большее количество гексоз, чем при аэробном дыхании, для того чтобы обеспечить себя необходимым количеством энергии. Доступ кислорода, обеспечивающий более эффективное в энергетическом отношении аэробное дыхание, предохраняет растение от излишне больших трат органического вещества, происходящих в процессе анаэробного дыхания. Мы уже указывали, что подобное действие кислорода, уменьшающего рас-

ходование углеводов на дыхание и угнетающего анаэробное дыхание и образование продуктов анаэробного обмена, получило название эффекта Пастёра.

Эффект Пастёра очень хорошо может быть показан на примере проростков и некоторых плодов. На рис. 70 изображены данные, характеризующие расходование углерода, происходящее при дыхании яблок в воздухе и в атмосфере азота, т. е. в анаэробных условиях. Совершенно очевидно, что при анаэробном дыхании расходуется бо́льшее количество органического вещества, чем при достаточном доступе кислорода.

Изменение характера дыхания при повышении концентрации углекислого газа в воздухе или же при понижении концентрации кислорода и переход к анаэробному типу дыхания проявляются прежде всего в изменении дыхательного газообмена и в возрастании дыхательного коэффициента. Так, например, повышение содержания в воздухе углекислоты вызывает постепенное увеличение дыхательного коэффициента у яблок. С другой стороны, при понижении содержания в воздухе кислорода, начиная с 5% его концентрации в воздухе и ниже, происходит не только уменьшение интенсивности дыхания моркови, но и постепенное возрастание дыхательного коэффициента — с 0,82 при 5% кислорода до 3,5 при содержании кислорода в воздухе, равном 1%. При 5% содержания кислорода в воздухе аэробное дыхание составляет 70—75% от аэробного дыхания в воздухе, а при 1% кислорода — всего лишь 20% от интенсивности аэробного дыхания в воздухе.

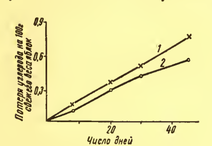


Рис. 70. Расходоваиие оргаиического вещества (в виде CO_2 и спирта) при аэробном и аиаэробиом дыхаиии яблок:

1 — в азоте, 2 — в воздухе

Различные растительные организмы отличаются друг от друга по своей способности к аэробному и анаэробному дыханию. Их можно разделить в этом смысле на три группы. К первой группе принадлежат такие плесневые грибы, как различные виды *Penicillium*, и высшие растения; они являются резко выраженными аэробами, у которых анаэробное дыхание протекает весьма слабо. Ко второй группе относятся дрожжи, являющиеся типичными анаэробами со слабой способностью к аэробному дыханию; третья группа представлена так называемыми мукоровыми плесневыми грибами, занимающими промежуточное положение.

Однако и высшие растения отличаются друг от друга по своей способности к аэробному и анаэробному дыханию. Обычно эту спо-

собность растений к тому или иному типу дыхания выражают с помощью так называемого коэффициента A/H (или у иностранных авторов I/N) — отношения интенсивности анаэробного дыхания к нормальному, аэробному. Представление об этих отличиях дают нижеследующие величины:

Растение	*Отношение A/H*
Проростки гороха	0,83 — 1,20
Корни моркови	0,58 — 1,10
Ягоды винограда	0,74 — 1,30
Клубни картофеля	0,73 — 1,10
Проростки горчицы	0,18 — 0,20

Некоторые исследователи высказывали взгляд, что анаэробное дыхание растений является патологическим процессом, не свойственным растительному организму. Однако этот взгляд был опровергнут всем последующим развитием биохимии растений, причем большую роль в выяснении взаимосвязи аэробного и анаэробного дыхания сыграли работы русских исследователей — В. И. Палладина, С. П. Костычева и Н. Н. Худякова. Так, Палладиным и Худяковым было показано, что интенсивность анаэробного дыхания так же зависит от температуры, как и интенсивность дыхания аэробного; вместе с тем было установлено, что отношение А/Н не изменяется при изменении температуры. Различные яды не изменяют это отношение и в малых концентрациях стимулируют в одинаковой мере как аэробное, так и анаэробное дыхание.

В. Руляндом с сотрудниками было показано, что некоторые ткани растений, как, например, зародышевая ткань семян, даже при вполне достаточном доступе кислорода обнаруживают высокие дыхательные коэффициенты; это свидетельствует о том, что в этих тканях наряду с аэробным дыханием протекают также какие-то анаэробные процессы.

Некоторые исследователи называют подобного рода дыхание, когда при полной обеспеченности кислородом все же процесс имеет частично анаэробный характер, аэробным брожением.

Анаэробное дыхание наблюдается также в плодах, где оно является следствием недостатка кислорода во внутренних тканях плода.

Так, С. В. Солдатенков показал, что по мере созревания плодов томатов содержание в них кислорода понижается до 1%, а содержание CO_2 возрастает до 25%. В соответствии с этим постепенно повышается дыхательный коэффициент созревающих плодов, что указывает на усиление процесса анаэробного дыхания по сравнению с дыханием аэробным.

Так, например, дыхательные коэффициенты созревающей сливы возрастают следующим образом: зеленая, без аромата — 0,85; зеленая, с ароматом — 1,25; желтая, мягкая, с сильным ароматом — 2,70. Аналогичные данные получаются при изучении изменения дыхательного коэффициента у созревающих плодов дыни и томатов, у ягод малины, смородины и рябины.

Закономерное повышение дыхательного коэффициента в процессе созревания многих плодов является характернейшим физиологическим признаком процесса созревания.

О наличии в созревающих плодах процесса анаэробного дыхания свидетельствуют не только высокие дыхательные коэффициенты, но также образование спирта. Этиловый спирт обнаружен в созревающих грушах, апельсинах, яблоках, дынях, сливах, томатах. Так, по данным Солдатенкова, в созревающих томатах содержится от 0,003 до 0,028% спирта. Необходимо, однако, отметить, что анаэробное дыхание растений не всегда протекает в соответствии с приведенным выше уравнением, согласно которому спирт и углекислый газ образуются в эквимолекулярных количествах (в отношении 100 : 100). Соотношение спирта и углекислого газа может быть весьма различным у разных растений. Эти различия ясно видны из следующих данных Костычева:

	Спирт: CO_2
Плесневой гриб	98 : 100
Плесневой гриб	92 : 100
Корень моркови	102 : 100
Яблоки «Синап»	80 : 100
Апельсины	70 : 100
Корень репы	49 : 100
Яблоки «Антоновка»	42 : 100
Клубни картофеля	7 : 100
Шампиньоны	0 : 100

Очевидно, что в некоторых растительных объектах, как, например, в шампиньонах, при анаэробном дыхании совершенно не образуется этиловый спирт; из приведенных данных видно, что в яблоках «Антоновка» и в корне репы этилового спирта образуется лишь 50% от того его количества, которое должно было бы образоваться в соответствии с приведенным ранее уравнением анаэробного дыхания.

Естественно, возникает вопрос о том, не образуются ли при анаэробном дыхании растений, кроме этилового спирта, также и дру-

гие продукты неполного окисления углеводов. Действительно, в настоящее время с достоверностью установлено, что при анаэробиозе наряду со спиртом образуются такие вещества, как ацетальдегид, а также уксусная и молочная кислоты. Ацетальдегид найден в яблоках, персиках, японской хурме, томатах, апельсинах, мандаринах, лимонах и сливах. Так, по данным Ю. В. Ракитина, в зрелых плодах содержится от 0,3 до 1,9 *мг* ацетальдегида на 100 *г* сырой массы плода. При этом отмечено, что по мере созревания плодов происходит повышение содержания в них не только этилового спирта, но также ацетальдегида. Это ясно видно из следующих цифр, полученных при исследовании созревания персиков: зеленые плоды — 0,16 *мг* ацетальдегида на 100 *г* сырой массы плодов, бледно-зеленые — 0,26 *мг*, желто-зеленые — 0,32 *мг* и желтые (зрелые) — 0,44 *мг*. Образование уксусной кислоты отмечено в тканях корешков и зародышей. Что касается молочной кислоты, то установлено, что она образуется при анаэробном дыхании клубней картофеля, корней моркови, а также проростков кукурузы, томатов, бобов и гороха.

В созревающих плодах (яблок, груш, бананов, авокадо и др.) образуется некоторое количество этилена C_2H_4, который, как известно, ускоряет созревание плодов. Хотя установлено, что его образование связано с процессом дыхания, однако неясно, какие биохимические процессы приводят к образованию этого непредельного углеводорода.

ХИМИЗМ И ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОЦЕССОВ БРОЖЕНИЯ И ДЫХАНИЯ

Приведенные нами выше суммарные уравнения брожения и дыхания дают представление только лишь о балансе исходных и образующихся веществ. Эти уравнения не отражают тех сложных превращений веществ, которые разыгрываются в процессе дыхания или брожения, и не дают представления о химической природе промежуточных продуктов.

В течение длительного времени многочисленные исследователи полагали, что дыхание и брожение представляют собой совершенно не связанные друг с другом процессы, протекающие независимо друг от друга. Однако О. Пфлюгером была высказана мысль о тесной взаимосвязи процессов дыхания и брожения. Особенно яркое выражение эта мысль о единстве процессов дыхания и брожения получила в трудах выдающегося советского биохимика и физиолога академика С. П. Костычева. Согласно Костычеву, теснейшая связь между брожением, или анаэробным дыханием растений, и

обычным аэробным дыханием может быть выражена следующей схемой:

гексоза $C_6H_{12}O_6$

↓

промежуточные продукты брожения и дыхания

↓	↓
брожение и анаэробное дыхание растений	аэробное дыхание ($6CO_2 + 6H_2O$)

О том, что брожение и дыхание теснейшим образом связаны друг с другом, свидетельствует прежде всего тот факт, что в растениях найдены те промежуточные продукты, которые образуются в дрожжах при спиртовом брожении. Так, например, как мы отмечали ранее, во многих растениях обнаружены глюкозо-6-фосфат, фруктозо-6-фосфат и фруктозо-1,6-дифосфат, являющиеся важными промежуточными продуктами спиртового брожения. Эти фосфорные эфиры сахаров найдены в листьях гороха, сахарной свеклы, овса, ячменя, в прорастающих семенах гороха. В листьях установлено наличие фосфоглицериновой кислоты, в ячмене и луке — пировиноградной кислоты, в целом ряде плодов — наличие уксусного альдегида.

Все эти соединения являются важнейшими промежуточными продуктами спиртового брожения.



Костычев
Сергей Павлович
(1877—1931)

Единство и теснейшая связь процессов брожения и дыхания растений вытекает также из того факта, что в растениях обнаружены все ферменты, катализирующие во время спиртового брожения превращения сахара и всех образующихся из него промежуточных продуктов.

Справедливость теории Костычева о единстве процессов дыхания и брожения подтверждается, наконец, опытами, имевшими целью исследование влияния, оказываемого на брожение и дыхание некоторыми клеточными ядами, в частности монойодуксусной кислотой, $CH_2J \cdot COOH$ и фтористым натрием. Датский биохимик Лундсгаард показал, что монойод-

уксусная кислота, специфически отравляя определенные ферменты, участвующие в процессе спиртового брожения, полностью приостанавливает этот процесс. Так же действует фтористый натрий, отравляя ферментативные процессы на определенном этапе спиртового брожения.

Первые опыты по выяснению влияния монойодуксусной кислоты и фтористого натрия на дыхание указывали как будто на то, что, в то время как брожение полностью приостанавливается под действием этих веществ, процесс аэробного дыхания продолжается по-прежнему. Таким образом, естественно возникала мысль о полной независимости процессов брожения и аэробного дыхания. Однако оказалось, что эти опыты были ошибочны и что монойодуксусная кислота и фтористый натрий подавляют не только брожение, но и аэробное дыхание. Это было показано на примере дрожжей, корней моркови и на листьях шпината. Эти факты ясно указывают на обоснованную Костычевым теснейшую связь между брожением или анаэробным дыханием и аэробным дыханием растений.

Какова же последовательность и взаимосвязь отдельных реакций, происходящих на промежуточных этапах брожения и дыхания?

В настоящее время благодаря трудам Л. А. Иванова, А. Гардена, С. П. Костычева, К. Нейберга, А. Н. Лебедева, Г. Эмбдена, Я. О. Парнаса и О. Мейергофа она представляется в следующем виде.

Начальные этапы аэробного и анаэробного расщепления углеводов состоят в образовании ряда фосфорных эфиров гексоз.

Здесь необходимо отметить, что важнейшая роль фосфорной кислоты в процессе спиртового брожения была впервые показана русскими биохимиками Л. А. Ивановым и А. Н. Лебедевым, которые экспериментально установили факт образования при брожении соединений сахара с фосфорной кислотой.

В настоящее время установлено, что на первой стадии брожения и дыхания молекула глюкозы под действием фермента гексокиназы воспринимает остаток фосфорной кислоты от аденозинтрифосфата.

В результате реакции образуется аденозиндифосфат и глюкопиранозо-6-фосфат. Этот последний под действием описанного нами ранее фермента глюкозофосфат-изомеразы превращается в фруктофуранозо-6-фосфат. Далее, образовавшийся фруктофуранозо-6-фосфат воспринимает еще один остаток фосфорной кислоты от новой молекулы аденозинтрифосфата; в результате этой реакции, которая катализируется фосфофруктокиназой, образуется новая молекула аденозиндифосфата и фруктофуранозо-1,6-дифосфат.

Все эти реакции образования фосфорных эфиров гексоз на первой стадии дыхания и брожения могут быть представлены следующим образом:

глюкопираноза	*глюкопиранозо-6-фосфат*	*фруктофуранозо-6-фосфат*	*фруктофуранозо-1,6-дифосфат*

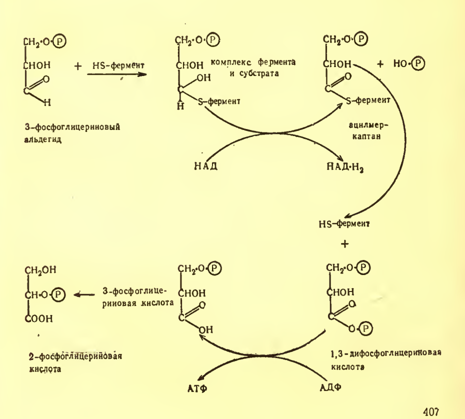
Глюкопиранозо-6-фосфат может образовываться и другим путем — из гликогена. При этом гликоген, подвергаясь действию фосфорилазы (см. стр. 328), образует глюкозо-1-фосфат, который в свою очередь под действием фосфоглюкомутазы дает глюкопиранозо-6-фосфат. Этот последний подвергается далее описанным выше превращениям с образованием в конечном счете фруктофуранозо-1,6-дифосфата.

Таким образом, образование фруктофуранозо-1,6-дифосфата является заключительной реакцией подготовительной стадии аэробного и анаэробного расщепления сахара. Эта подготовительная стадия слагается из ряда ферментативных реакций, сопровождающихся переносом макроэргических фосфатных связей. В результате этих реакций молекула сахара переходит в оксоформу, приобретает большую лабильность и становится весьма способной к дальнейшим ферментативным превращениям. При этом необходимо отметить, что симметричное расположение остатков фосфорной кислоты по концам молекулы фруктозы облегчает разрыв ее углеродной цепочки как раз в середине. Именно поэтому следующий, важнейший этап диссимиляции углеводов заключается в разрыве углеродной цепочки фруктозодифосфата и образовании двух молекул фосфотриоз. Эта реакция катализируется ферментом альдолазой, содержащимся в дрожжах, бактериях, в тканях животных и высших растений; в частности, альдолаза выделена в очищенном виде из семян гороха. Как мы уже указывали ранее, под действием альдолазы фруктозодифосфат обратимо распадается на 3-фосфоглицериновый альдегид и фосфодиоксиацетон, которые могут превращаться друг в друга под действием фермента триозофосфат-изомеразы (стр. 331). Дальнейшему превращению в процессе брожения или дыхания подвергается 3-фосфоглицериновый альдегид. По мере его использования образовавшийся фосфодиоксиацетон под действием триозофосфат-изомеразы образует новые количества 3-фосфоглицеринового альдегида. Образование фосфодиоксиацетона в качестве промежуточного продукта спиртового брожения было установлено А. Н. Лебедевым.

Дальнейшее превращение 3-фосфоглицеринового альдегида заключается в его окислении в 1,3-дифосфоглицериновую кислоту. Эта реакция окисления происходит под действием фермента дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида, активной группой которого у дрожжей является НАД, а у высших растений — НАД или НАДФ (см. стр. 304—305).

Здесь важно отметить, что энергия, освобождающаяся в результате окисления 3-фосфоглицеринового альдегида, аккумулируется в присоединяющемся остатке фосфорной кислоты, причем образуется новая макроэргическая связь. Таким образом, окисление 3-фосфоглицеринового альдегида в 1,3-дифосфоглицериновую кислоту сопровождается образованием макроэргической связи.

Образовавшаяся 1,3-дифосфоглицериновая кислота отдает один остаток фосфорной кислоты, содержащий макроэргическую связь, молекуле аденозиндифосфата, причем образуется аденозинтрифосфат и 3-фосфоглицериновая кислота; реакция отщепления остатка фосфорной кислоты от 1,3-дифосфоглицериновой кислоты и пере-



дача его молекуле аденозиндифосфата происходит под действием фермента фосфотрансферазы. Получившаяся в результате 3-фосфоглицериновая кислота под действием фермента фосфоглицеромутазы превращается в 2-фосфоглицериновую кислоту.

Таким образом, процесс превращения 3-фосфоглицеринового альдегида в 2-фосфоглицериновую кислоту можно представить в виде схемы, приведенной на стр. 407.

Образовавшаяся в процессе брожения или дыхания 2-фосфоглицериновая кислота под действием фермента фосфопируват-гидратазы (енолазы) дает фосфоенолпировиноградную кислоту.

При этом молекула 2-фосфоглицериновой кислоты отдает воду, а в остатке фосфорной кислоты возникает макроэргическая связь. Таким образом, отнятие воды приводит к перераспределению внутренней энергии молекулы, в результате чего образуется богатая энергией связь. Образовавшаяся фосфоенолпировиноградная кислота передает остаток фосфорной кислоты, содержащий макроэргическую связь, молекуле аденозиндифосфата, причем образуются молекула аденозинтрифосфата и молекула енолпировиноградной кислоты, которая является весьма нестойкой и превращается в более устойчивую кетоформу пировиноградной кислоты. Реакция превращения фосфоенолпировиноградной кислоты в енолпировиноградную кислоту катализируется фосфотрансферазой. Таким образом, превращение 2-фосфоглицериновой кислоты в пировиноградную кислоту может быть представлено в виде следующей схемы:

$$\underset{\text{2-фосфоглицериновая кислота}}{CH_2OH{-}HC{\cdot}O{\cdot}\text{Ⓟ}{-}COOH} \xrightarrow[-H_2O]{\text{фосфопируват-гидратаза}} \underset{\text{фосфоенолпировиноградная кислота}}{CH_2{=}C{\cdot}O{\cdot}\text{Ⓟ}{-}COOH} \xrightarrow{\text{АДФ} \rightarrow \text{АТФ}} \underset{\text{енолпировиноградная кислота}}{CH_2{=}C{\cdot}OH{-}COOH} \longrightarrow \underset{\text{пировиноградная кислота}}{CH_3{-}CO{-}COOH}$$

Ферменты, катализирующие эти превращения, найдены в тканях животных, семенах, листьях, клубнях, дрожжах и бактериях.

Пировиноградная кислота, образовавшаяся в результате описанных нами реакций, имеющих место на первых стадиях дыхания или брожения, может далее подвергаться различным превращениям, направление которых зависит от условий среды, точнее, — от наличия аэробных или анаэробных условий, и от специфических особенностей данного организма, сложившихся в процессе его эволюционного развития. В анаэробных условиях пировиноградная кислота подвергается превращениям, происходящим при спиртовом или молочнокислом брожении. В аэробных условиях она может окисляться до уксусной кислоты или же подвергаться полному окислению до углекислого газа и воды в соответствии с уравнением аэробного дыхания.

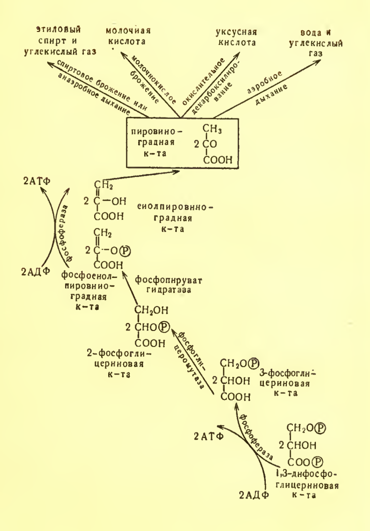
Центральное положение пировиноградной кислоты в общей системе реакций, происходящих при аэробной или анаэробной диссимиляции углеводов — при процессах дыхания или брожения, можно представить в виде приведенной ниже схемы (см. стр. 410—411).

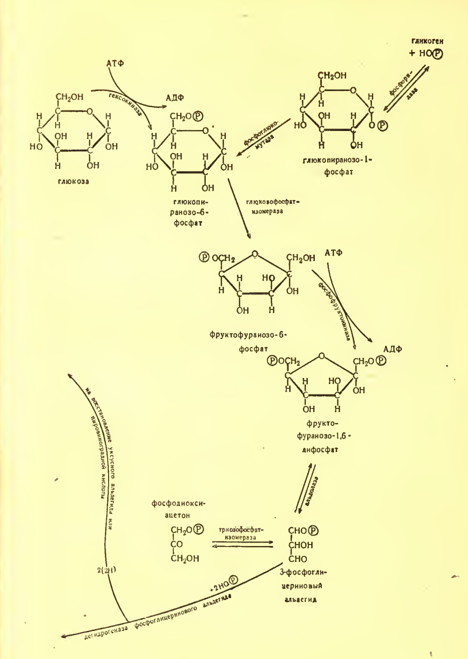
В приведенной схеме, начиная со стадии 1,3-дифосфоглицериновой кислоты, все образующиеся затем промежуточные продукты имеют коэффициент 2. Это объясняется тем, что из двух образовавшихся фосфотриоз — фосфодиоксиацетона и фосфоглицеринового альдегида — дальнейшему превращению подвергается фосфоглицериновый альдегид. Ообразовавшаяся молекула фосфодиоксиацетона под действием изомеразы фосфотриоз также превращается в новую молекулу фосфоглицеринового альдегида и далее участвует во всех последующих превращениях.

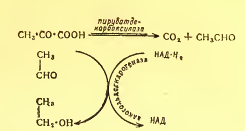
Из всего вышеизложенного очевидно, что именно пировиноградная кислота имеет большое значение, являясь тем промежуточным продуктом брожения и дыхания, дальнейшие превращения которого приводят к тому или иному процессу — спиртовому или молочнокислому брожению, образованию уксусной кислоты или же полному окислению до углекислого газа и воды в процессе аэробного дыхаиия.

При спиртовом брожении или при анаэробном дыхании растительных тканей образовавшаяся пировиноградная кислота подвергается расщеплению под действием фермента пируватдекарбоксилазы на углекислый газ и уксусный альдегид. Этот последний далее вступает во взаимодействие с $НАД \cdot H_2$, образовавшимся ранее, при окислении фосфоглицеринового альдегида в фосфоглицериновую кислоту. В результате происходит образование этилового спирта и регенерируется молекула НАД. Реакция восстановления уксусного альдегида катализируется ферментом алкогольдегидрогеназой, коферментом которой является НАД. Последовательность этих превращений пировиноградной кислоты при спиртовом брожении может быть представлена изображенными ниже уравнениями.

При молочнокислом брожении не происходит расщепления пировиноградной кислоты пируватдекарбоксилазой, и восстановле-


этиловый спирт и углекислый газ
молочная кислота
уксусная кислота
вода и углекислый газ
спиртовое брожение или анаэробное дыхание
молочнокислое брожение
окислительное декарбоксилирование
аэробное дыхание
пировиноградная к-та
CH_3
2 CO
COOH
2АТФ
CH_2
2 C—OH
COOH
енолпировиноградная к-та
фосфофераза
CH_2
2 C—O(P)
COOH
2АДФ
фосфоенолпировиноградная к-та
фосфопируват гидратаза
CH_2OH
2 CHO(P)
COOH
2-фосфоглицериновая к-та
фосфоглицеромутаза
CH_2O(P)
2 CHOH
COOH
3-фосфоглицериновая к-та
2АТФ
фосфофераза
CH_2O(P)
2 CHOH
COO(P)
1,3-дифосфоглицериновая к-та
2АДФ


гликоген
+ HO(P)
фосфорилаза
АТФ
гексокиназа
АДФ
глюкоза
глюкопиранозо-6-фосфат
фосфоглюкомутаза
глюкопиранозо-1-фосфат
глюкозофосфатизомераза
АТФ
фосфофруктокиназа
АДФ
фруктофуранозо-6-фосфат
фруктофуранозо-1,6-дифосфат
альдолаза
на восстановление уксусного альдегида или пировиноградной кислоты
фосфодиоксиацетон
триозофосфатизомераза
3-фосфоглицериновый альдегид
2(2H)
+2HO(P)
дегидрогеназа фосфоглицеринового альдегида



нию подвергается, по-видимому, непосредственно пировиноградная кислота, превращающаяся при этом в молочную кислоту:

$$CH_3 \cdot CO \cdot COOH + 2H \xrightleftharpoons{\text{лактатдегидрогеназа}} CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH$$

пировиноградная кислота — молочная кислота

Восстановление пировиноградной кислоты катализируется в данном случае ферментом лактатдегидрогеназой.

Как показали работы Д. М. Михлина с сотрудниками, уксусный альдегид, образующийся в результате декарбоксилирования пировиноградной кислоты, может также подвергаться в растениях так называемой реакции дисмутации. Эта реакция идет в два этапа. Первый этап заключается в том, что альдегид, присоединяя к себе кислород воды, окисляется до уксусной кислоты; при этом водород воды соединяется с участвующей в реакции НАД:

$$CH_3 \cdot C(=O)H + H_2O + \text{НАД} \longrightarrow CH_3 \cdot COOH + \text{НАД} \cdot H_2$$

Образовавшийся НАД$\cdot H_2$ отдает затем свой водород второй молекуле уксусного альдегида, восстанавливая ее до этилового спирта.

Полное окисление пировиноградной кислоты, происходящее при аэробном дыхании, идет через ряд промежуточных этапов, катализируемых соответствующими ферментами. Последовательность реакций, имеющих место при аэробном окислении пировиноградной кислоты, можно представить следующим образом.

Пировиноградная кислота под действием оксалоацетат-декарбоксилазы конденсируется с молекулой углекислого газа и образует при этом щавелевоуксусную кислоту, которая очень легко превращается в свою енольную форму $HOOC \cdot CH = C(OH) \cdot COOH$.

С другой стороны, в результате окислительного декарбоксилирования второй молекулы пировиноградной кислоты образуется молекула углекислого газа и молекула уксусной кислоты.

Процесс окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты

$$CH_3COCOOH + {}^1/_2O_2 \rightarrow CH_3COOH + CO_2,$$

как это показано для некоторых микроорганизмов, катализируется сложной каталитической системой. Эта реакция необратима. Для ее осуществления необходимы НАД, липоевая кислота и дифосфотиамин. Важно отметить, что окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты и других α-кетокислот сопровождается возникновением макроэргических связей.

Образовавшаяся молекула енольной формы щавелевоуксусной кислоты конденсируется с активированной молекулой уксусной кислоты и в результате образуется лимонная кислота. Эта реакция катализируется ферментом цитрат-синтазой, найденным у животных, микроорганизмов и в различных растениях. Лимонная кислота далее превращается в цис-аконитовую кислоту, и затем — в изолимонную кислоту. По-видимому, и та, и другая реакции превращения лимонной кислоты катализируются одним и тем же ферментом — аконитатгидратазой.

Процесс активирования уксусной кислоты и перенос ацетильного остатка на щавелевоуксусную кислоту с образованием в конечном счете лимонной кислоты происходит при участии кофермента А (коэнзима А), необходимого для действия цитрат-синтазы.

Свое название он получил благодаря присущей ему каталитической функции ацетилирования. Кофермент А найден в бактериях, дрожжах, животных тканях и высших растениях. Как показали работы Ф. Липмана, Ф. Линена и др., кофермент А состоит из остатка пантотеновой кислоты, аденозина, тиоэтаноламина и трех остатков фосфорной кислоты, соединенных между собой следующим образом: см. стр. 414.

Мы уже отмечали ранее, что в активировании уксусной кислоты принимает участие аденозинтрифосфат. Процесс активирования уксусной кислоты катализируется ацетил-коэнзим А-синтетазой (стр. 333), выделенной в очищенном виде из листьев шпината.

Образовавшийся указанным путем ацетил-кофермент А ($CH_3CO \sim S$—А) содержит богатую энергией (макроэргическую) тиоэфирную связь, при гидролизе которой освобождается 8000 калорий. Ацетилкофермент А может затем передавать активированный ацетильный остаток различным соединениям, в данном случае щавелевоуксусной кислоте. Перенос ацетильных остатков при участии кофермента А играет также важную роль в биосинтезе жирных кислот, стеролов и каучука (см. стр. 218). Вместе с тем кофермент А принимает участие не только в переносе ацетильных остатков, но также

```
          CH3  OH
          |    |       O    CH2—CH2
    CH2—C————CH—C //    /        \
    |   |            \  /          C—NH—CH2—CH2—SH
    O   CH3           N          //
    |                  \        O
HO—P=O                  H
    |
    O
    |
HO—P=O
    |
    O
    |
    CH2—CH———CH—CH—CH—аденин
        |     |   |   |
        |     O   OH  |
        |     |       |
        |  HO—P=O     |
        |     |       |
        |     HO      |
        |_____O_______|
```

в переносе ряда других ацилов, например остатков бензойной, стеариновой и янтарной кислот.

Таким образом, кофермент А является важнейшим ацилирующим агентом в организме. Открытие кофермента А и установление его химической природы имеет большое принципиальное значение, поскольку таким образом доказана каталитическая функция пантотеновой кислоты — витамина, играющего весьма важную роль в обмене веществ. Вместе с тем открытие богатого энергией соединения кофермента А с ацетильным остатком $CH_3CO{\sim}S{-}A$ указывает на существование в природе еще одного типа макроэргических связей.

Образовавшаяся описанным выше путем изолимонная кислота далее подвергается дегидрированию под влиянием изоцитратдегидрогеназы и трифосфопиридиннуклеотида (НАДФ). В результате этой окислительной реакции образуется щавелевоянтарная кислота, которая декарбоксилируется под действием соответствующей декарбоксилазы и дает при этом молекулу углекислого газа и молекулу α-кетоглютаровой кислоты. Образовавшаяся α-кетоглютаровая кислота подвергается окислительному декарбоксилированию, в результате чего выделяется молекула CO_2 и образуется янтарная кислота. Эта последняя, окисляясь далее под действием сукциндегидрогеназы, превращается в фумаровую кислоту, которая в свою очередь под влиянием фермента фумаратгидратазы присоединяет мо-

лекулу воды и дает яблочную кислоту. Дегидрирование яблочной кислоты, происходящее под действием малатдегидрогеназы, приводит к образованию щавелевоуксусной кислоты, которая может снова вступить в реакцию конденсации с новой молекулой уксусной кислоты, и таким образом, все описанные реакции окислительной диссимиляции пировиноградной кислоты начнутся снова.

Описанная нами последовательность и взаимосвязь превращений пировиноградной кислоты получила название цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот (цикла Г. А. Кребса), который может быть представлен в виде схемы, изображенной ниже (цифры в скобках соответствуют номерам реакций и названиям соответствующих ферментных систем, приведенным в табл. 19).

Из приведенной схемы цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот и табл. 19 очевидно, что окисление одной молекулы пировиноградной кислоты сопровождается выделением трех молекул угле-

кислого газа (реакции 1, 6 и 7) и отнятием пяти пар водородных атомов (реакции 1, 5, 7, 8, 10). Возникает вопрос — откуда берутся 5 пар водородных атомов, если в самой пировиноградной кислоте содержится всего лишь 4 водородных атома? Ответ на этот вопрос легко получить при рассмотрении изображенной схемы. На некоторых этапах цикла отнятию водорода предшествует присоединение воды к молекуле подвергающегося дегидрированию соединения. Это имеет место при реакциях 1, 4, 7, 9; однако фактически одна из присоединяющихся молекул воды не входит в баланс окисления пировиноградной кислоты, поскольку во время реакции (2) выделяется молекула воды, которая затем используется на одном из следующих этапов цикла. Водород, отнятый дегидрогеназами от того или иного соединения на 1, 5, 7, 8 и 10 этапах цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот, с помощью соответствующих ферментных систем (цитохромной или полифенолазной системы) окисляется до воды кислородом воздуха, потребляемым в процессе аэробного дыхания. Таким образом, если суммарно представить балансовое уравнение окисления пировиноградной кислоты, то оно будет иметь следующий вид:

$$C_3H_4O_3 + 3H_2O + 5O \rightarrow 3CO_2 + 5H_2O.$$

Из приведенного уравнения очевидно, что кислород воздуха, активируемый с помощью цитохромной или полифенолазной системы, потребляется исключительно на окисление водорода пировиноградной кислоты и водорода воды, присоединяющейся к соответствующим субстратам на определенных этапах цикла.

Таблица 19

Номер реакции	Ферменты и коферменты
1,7	Система окислительного декарбоксилирования
2	Цитрат-синтаза: кофермент А
3,4	Аконитатгидратаза
5	Изоцитратдегидрогеназа; НАДФ
6	Декарбоксилаза щавелевоянтарной кислоты
8	Сукциндегидрогеназа
9	Фумаратгидратаза
10	Малатдегидрогеназа; НАД
11	Спонтанное превращение
12	Оксалацетат-декарбоксилаза

Изложенные нами современные представления об участии воды в промежуточных реакциях, имеющих место при полном окислении пировиноградной кислоты в процессе аэробного дыхания, являются блестящим подтверждением идей, развивавшихся в свое время

крупнейшим русским физиологом и биохимиком — академиком В. И. Палладиным. В созданной им теории дыхания растений Палладин отводил воде весьма важную роль, указывая, что кислород воды участвует в окислении органического вещества в процессе дыхания. Его итоговая статья, содержавшая изложение теории, обосновывавшей важную роль воды в процессе дыхания, называлась: «Значение воды в процессе спиртового брожения и дыхания растений».

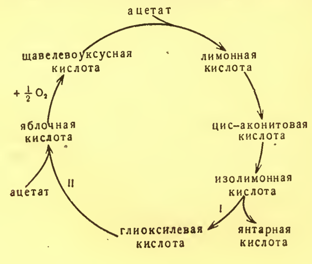
Если в приведенном нами выше уравнении окисления пировиноградной кислоты сократить воду, то мы получим следующее балансовое уравнение:

$$C_3H_4O_3+5O=3CO_2+2H_2O.$$

Учитывая, что из одной молекулы глюкозы в процессе ее анаэробного расщепления образуются две молекулы пировиноградной кислоты, а также то, что при окислении фосфоглицеринового альдегида в фосфоглицериновую кислоту от каждой окисляемой молекулы отнимаются два атома водорода, которые окисляются, в конце концов, до воды кислородом воздуха, мы можем подвести баланс израсходованных и образовавшихся веществ и получить в итоге обычное суммарное уравнение аэробного дыхания:

$$C_6H_{12}O_6+6O_2 \rightarrow 6CO_2+6H_2O.$$

Некоторые бактерии (*Pseudomonas*, *Escherichia coli*) и плесиевые грибы в качестве единственного источника углерода могут использовать двууглеродные соедииення, например ацетат. У этих организмов промежуточный обмен углерода может осуществляться не только с помощью описанного выше цикла дикарбоновых и трнкарбоновых кислот, ио также с помощью разновидиости этого цикла, в которой участвует глиоксилевая кислота. Эта разновндиость цикла Кребса называется циклом глиоксилевой кислоты и может быть изображеиа в виде следующей схемы:



Так же как и в основном цикле дикарбоновых и трикарбоновых кислот, ацетат вступает в реакции со щавелевоуксусной и глиоксилевой кислотами в виде ацетилкофермента А. Особенностью цикла глиоксилевой кислоты являются реакции I и II, в результате которых изолимонная кислота превращается в глиоксилевую и затем в яблочную кислоты. Реакция I катализируется ферментом изоцитрат-лиазой (см. стр. 298), а реакция II — ферментом малатсинтазой, действие которой аналогично действию конденсирующего фермента цитрат-синтазы в цикле Кребса. Что касается остальных реакций цикла глиоксилевой кислоты, то они катализируются теми же ферментами, что и реакции «основного» цикла Кребса. Реакции цикла глиоксилевой кислоты лежат в основе превращения жира в углеводы, происходящего при прорастании богатых маслом семян, когда в результате окислительной диссимиляции жирных кислот образуются значительные количества уксусной кислоты (ацетилов) (см. стр. 460).

Если рассмотреть весь путь диссимиляции глюкозы в процессе дыхания — его анаэробную стадию вплоть до образования пировиноградной кислоты и дальнейшую аэробную стадию, заключающуюся в полном окислении пировиноградной кислоты до CO_2 и H_2O, то можно установить прежде всего, что окисление любого из соединений, образующихся на первой или второй стадии, начинается с дегидрирования — отнятия водорода от данного соединения под действием соответствующей дегидрогеназы.

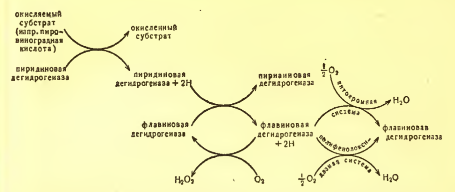
Мысль о дегидрировании как первом этапе окисления органического вещества в процессе дыхания впервые была высказана в свое время Палладиным и изложена им в его известной речи «Значение восстановлений для дыхания растений». Теория Палладина в дальнейшем была подтверждена и развита работами Т. Виланда.

Водород, отнятый дегидрогеназами от того или иного окисляемого субстрата, передается затем через ряд промежуточных ферментных систем и, в конце концов, соединяется с кислородом воздуха, образуя воду или перекись водорода.

Как мы уже указывали ранее, роль подобного промежуточного переносчика водорода, воспринимающего водород от пиридиновых дегидрогеназ, обычно играют флавиновые ферменты. Окисление водорода осуществляется затем, в основном, либо с помощью полифенолоксидазной системы (включающей и пероксидазу), либо с помощью цитохромной системы. Эти ферментные системы, как бы заканчивающие процесс окисления водорода, отнятого от того или иного субстрата, получили название «конечных» (или «терминальных») оксидаз.

Роль «конечной» оксидазы может играть также и сам флавиновый фермент (например, оксидаза гликолевой кислоты), передающий водород непосредственно кислороду воздуха. При этом образуется перекись водорода, которая разлагается под действием каталазы, или же используется для окисления каких-либо органических соединений под действием пероксидазы.

Таким образом, дегидрирование и окисление водорода кислородом воздуха в процессе дыхания может быть представлено в виде следующей схемы:



Более подробное изложение сущности процессов, имеющих место при действии флавиновых ферментов, а также полифенолоксидазной или цитохромной системы, было дано ранее в главе VI.

Здесь только мы еще раз подчеркнем, что кислород воздуха для того, чтобы он окислил водород, отнятый дегидрогеназами от того или иного субстрата, должен быть предварительно активирован. Активирование кислорода происходит при участии «конечных» окислительных систем — флавиновой, полифенолоксидазной или цитохромной. При этом, в соответствии с созданной академиком А. Н. Бахом перекисной теорией биологического окисления, весьма существенную роль играет образование органических перекисей и перекиси водорода. Органические перекиси образуются при окислении полифенолов (дыхательных хромогенов В. И. Палладина) под действием полифенолазы и принимают затем непосредственно участие в окислении того или иного органического соединения. В том случае, когда флавиновый фермент передает отнятый от окисляемого субстрата водород непосредственно кислороду воздуха, образуется перекись водорода. Она может быть далее использована как источник активного кислорода для окисления различных органических соединений под действием пероксидазы. Вместе с тем образовавшаяся перекись водорода принимает участие в окислении восстановленной формы цитохрома—важнейшего компонента цитохромной системы. Окисление цитохрома и превращение его в окисленную форму осуществляется при этом под действием цитохромоксидазы или же цитохромпероксидазы и перекиси водорода.

У некоторых растений роль «конечной» оксидазы играет аскорбатоксидаза. При этом окислительно-восстановительные превращения аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот теснейшим образом связаны с ферментативными превращениями системы окисленного и восстановленного глютатиона ($2\Gamma SH \rightleftarrows \Gamma S{-}S\Gamma + 2H$), катализируемыми ферментом глютатионредуктазой, найденным в высших растениях, дрожжах и бактериях.

В свою очередь эта система через пиридиновые дегидрогеназы «подключается» к циклу ди- и трикарбоновых кислот, участвуя в

окислении тех или иных компонентов этого цикла. Так, например, показано, что в семенах гороха происходит окисление изолимонной кислоты в α-кетоглютаровую, или же яблочной в щавелевоуксусную, по следующей схеме:

α-кетоглютаровая (или щавелевоуксусная) кислота — изолимонная (или яблочная) кислота

$НАДФ \cdot H_2$ — НАДФ

глютатионредуктаза

ГS—SГ — ГSH

аскорбиновая кислота — дегидроаскорбиновая кислота

аскорбатоксидаза

$\frac{1}{2}O_2$ — H_2O

Совершенно очевидно, что в этой схеме в качестве «конечной» оксидазы, окисляющей аскорбиновую кислоту, вместо аскорбатоксидазы может функционировать полифенолоксидазная система и цитохромная система. Это зависит от природы данного организма.

Исследования последнего времени показали, что в процессе клеточного дыхания перенос электронов конечными оксидазными системами происходит при участии ряда жирорастворимых хинонов, получивших общее название убихинонов (коферментов Q). Эти вещества найдены в клетках растений, животных и микроорганизмов. Они обозначаются как кофермент Q_7, Q_8 и Q_9,.

Коферменты Q имеют в основе следующую структуру:

```
                O
                ‖
                C
              /   \
CH3O—C       C—CH3
         ‖       ‖                    CH3
         ‖       ‖                     |
CH3O—C       C—(CH2—CH=C—CH2)nH
              \   /
                C
                ‖
                O
```

Таким образом, эти соединения являются производными 2,3-диметокси-5-метилбензохинона. Если $n = 9$, то мы имеем кофермент Q_9, если $n = 8$, то кофермент Q_8 и т. д. Они могут легко восстанавливаться, образуя соответствующие фенолы.

Открытие участия коферментов Q в биологическом окислении является подтверждением и развитием идеи В. И. Палладина о первостепенной роли хинонов и полифенолов в процессе клеточного дыхания.

У разных растительных организмов природа «конечной» оксидазной системы различна. Так, например, если в клубнях картофеля роль «конечной» оксидазы играет главным образом полифенолокси-

даза, то в прорастающих семенах ячменя или пшеницы эта роль принадлежит главным образом цитохромной системе. У белокочанной капусты, по-видимому, ведущую роль в качестве «конечной» оксидазы играет аскорбатоксидаза.

Определенные различия наблюдаются даже между отдельными сортами одного и того же вида растений. Так, например, установлено, что цианид, отравляющий полифенолоксидазу и цитохромоксидазу, совершенно по-разному действует на дыхание корней моркови разных сортов — на одни сорта он почти не действует, а на другие действует очень сильно. Очевидно, что у первых цитохромная и полифенолоксидазная система играют весьма незначительную роль в процессе дыхания и флавиновые дегидрогеназы передают водород непосредственно кислороду воздуха.

Приведенные факты свидетельствуют о том, что в процессе эволюционного развития растений происходила эволюция дыхательных ферментативных систем. Однако значительные изменения в природе «конечных» оксидаз наблюдаются также в процессе индивидуального развития данного растения. Так, например, Д. М. Михлиным и П. А. Колесниковым установлено, что в прорастающих семенах ячменя на первых этапах прорастания преобладает цитохромная система, однако по мере дальнейшего развития проростков цитохромная система уступает место флавиновой системе.

Таким образом, мы рассмотрели сущность ферментативных реакций, лежащих в основе окисления водорода, отнимаемого от окисляемого вещества, и образования в конечном счете воды.

При полном окислении углеводов в процессе дыхания, кроме воды, образуется также углекислый газ. Как видно из приведенной нами выше схемы цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот, источником выделяемого при дыхании углекислого газа является реакция декарбоксилирования кетокислот. Под действием соответствующих ферментов декарбоксилированию подвергаются пировиноградная, щавелевоянтарная и α-кетоглютаровая кислоты. Источником образования некоторого количества углекислого газа может также служить реакция разложения щавелевоуксусной кислоты, происходящая под действием оксалацетат-декарбоксилазы. Этот фермент катализирует реакцию:

$$\text{щавелевоуксусная кислота} \rightleftarrows \text{пировиноградная кислота} + CO_2.$$

Он найден в зародышах пшеницы, в горохе, шпинате, в корнях свеклы, моркови, петрушки и пастернака.

Возникает вопрос о том, в какой мере описанная нами схема окисления пировиноградной кислоты, представляющая собой, так сказать, «генеральный» путь окислительного распада углеводов, доказана для растительных организмов. В настоящее время на этот вопрос можно ответить в том смысле, что эта схема представляет собой теорию, подтверждаемую все новыми и новыми экспериментальными данными.

Прежде всего необходимо указать на тот факт, что вполне определенно доказано образование пировиноградной кислоты в процессе дыхания растительных тканей. Вместе с тем установлено, что пировиноградная кислота как важнейшее промежуточное соединение, накапливающееся в процессе дыхания, сильно стимули-



Рис. 71. Митохондрии из соцветия *Arum maculatum* (увеличено в 60000 раз)

рует дыхание растений. Так, например, в присутствии пировиноградной кислоты интенсивность дыхания проростков овса возрастает на 57—94%. С другой стороны, показано, что реакции цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот происходят в форменных элементах цитоплазмы — митохондриях.

На рис. 71 представлена фотография в электронном микроскопе митохондриев из соцветия *Arum maculatum*.

Митохондрий представляет собой высокоорганизованную структуру, являющуюся как бы многокамерным мешочком удлиненной формы с эластичными стенками, образующими ряд ответвлений и как бы разделяющих внутренность митохондрия на отдельные, соединяющиеся между собой камеры. Внутренняя часть митохондрия заполнена полужидким содержимым. Оболочка митохондрия состоит на 65% из белка и на 35% — из липидов. Как это

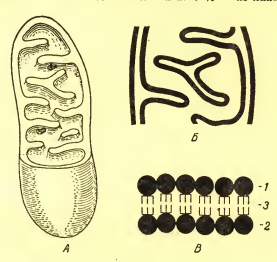


Рис. 72. Схема структуры митохондрия. *А* — общая схема строения, *Б* — схема продольного разреза части митохондрия, *В* — схема строения оболочки митохондрия
1, 2 — белковые молекулы, *3* — двойной слой молекул липидов

видно на рис. 72, внешний и внутренний слой оболочки состоит из белка, а между ними расположен липидный слой. Митохондрии являются, так сказать, «силовыми станциями» клетки. Именно в них разыгрываются реакции цикла Кребса и связанные с ними окислительные процессы, заканчивающиеся окислительным фосфорилированием и синтезом АТФ. Ферментативные системы, контролирующие реакции цикла Кребса, сосредоточены в полужидком содержимом митохондрий, а ферментативные системы окисления — в оболочке.

По всей вероятности, большое физиологическое значение имеет тот факт, что митохондрии могут сжиматься и набухать (по-видимому, путем поглощения или отдачи воды в цитоплазму). При этом оболочка митохондрия, подобно мускульной ткани, может растягиваться и сокращаться, причем эти сокращения и растяжения теснейшим образом связаны с концентрацией АТФ в митохондрии. Если концентрация АТФ повышается, то оболочка сокращается, и наоборот. Таким образом, интенсивность окислительных процессов и водный режим клетки регулируются концентрацией АТФ в митохондриях.

Митохондрии, выделенные из цитоплазмы проростков фасоли, гороха, люпина и цветной капусты, а также из плодов авокадо, чрезвычайно интенсивно окисляют пировиноградную кислоту, причем это окисление происходит только лишь в присутствии незначитель-

ных количеств других кислот, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях цикла дикарбоновых и трикарбоновых кислот. Подобное сопряженное окисление пировиноградной кислоты происходит особенно энергично в присутствии незначительных количеств α-кетоглютаровой, яблочной, фумаровой и янтарной кислот. Результаты этих опытов ясно свидетельствуют о важной роли реакций цикла дикарбоновых и трикарбоновых кислот в процессе окисления пировиноградной кислоты в растениях.

При этом весьма существенно, что окисление митохондриями тех или иных веществ сопровождается поглощением неорганического фосфата, который входит в состав аденозинтрифосфорной кислоты митохондриев. На это указывают данные Д. Боннера и сотрудников, приведенные в табл. 20, полученные в опытах с фосфатом, содержащим меченый радиоактивный фосфор P^{32}.

Таблица 20

Включение P^{32} неорганического фосфата в аденозинтрифосфорную кислоту митохондриев фасоли

Окисляемый субстрат	Поглощение O_2 в *мм*³	Процент P^{32}, включившегося в АТФ митохондриев	Относительная радиоактивность фосфора образовавшейся АТФ
Без добавки	0	0,04	0,85
С α-кетоглютаровой кислотой .	86	2,24	47,5

Аналогичные данные были получены с митохондриями, выделенными из листьев табака и томатов, а также из корней пшеницы, ячменя и гороха.

Все эти данные показывают, что у растений, так же как и у других организмов, окислительные процессы сопровождаются окислительным фосфорилированием, т. е. включением неорганического фосфата в состав аденозинтрифосфорной кислоты, в которой аккумулируется энергия, освобождающаяся в результате реакций биологического окисления.

Что касается наличия в растениях веществ, образующихся из пировиноградной кислоты при ее окислении, то все они, за исключением щавелевоянтарной кислоты, найдены в растениях. По-видимому, щевелевоянтарная кислота, являясь весьма нестойким соединением, очень быстро распадается, образуя CO_2 и α-кетоглютаровую кислоту.

Что касается ферментов, катализирующих отдельные реакции цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот, то все они найдены в растениях или микроорганизмах.

Так, например, установлено, что митохондрии из проростков гороха содержат ферменты, катализирующие взаимопревращения изолимонной, цис-аконитовой и лимонной кислот, превращение изолимонной кислоты в α-кетоглютаровую кислоту, этой последней — в янтарную кислоту, янтарной кислоты — в фумаровую кислоту, фумаровой кислоты — в яблочную, яблочной — в щавелевоуксусную; показано также, что ферменты митохон-

дриев катализируют синтез лимонной кислоты из щавелевоуксусной и уксусной кислот. До последнего времени оставался неясным вопрос о наличии в растительных тканях сукцинатдегидрогеназы — содержащего железо флавопротеида, катализирующего обратимое превращение янтарной и фумаровой кислот. Однако установлено, что янтарная кислота сильно стимулирует дыхание корня моркови и что, следовательно, она является нормальным промежуточным продуктом дыхания растений. Вместе с тем прямые опыты Н. С. Гельман и других авторов свидетельствуют о наличии сукцинатдегидрогеназы в растительных тканях.

Описанный нами главный — так сказать «генеральный» — путь диссимиляции углеводов в растительных организмах включает фосфорилирование гексоз, образование двух молекул фосфотриоз, их последующие превращения вплоть до образования пировиноградной кислоты и дальнейшее превращение этой последней в процессе брожения или же в процессе дыхания. Однако существуют также другие пути окислительного превращения углеводов.

Одним из таких побочных путей окислительного превращения гексоз, исследованным В. А. Энгельгардтом, О. Варбургом и Ф. Дикенсом, является образование глюконовой кислоты путем окисления глюкозо-6-фосфата особой дегидрогеназой, найденной в дрожжах и высших растениях. Этот процесс, по-видимому, идет таким образом, что из глюкозо-6-фосфата образуется промежуточный δ-лактон, который затем превращается в 6-фосфоглюконовую кислоту:

глюкозо-6-фосфат + НАДФ ⇄ δ-лактон + НАДФ H_2; δ-лактон $+ H_2O$ ⇄ 6-фосфоглюконовая кислота

Затем от фосфоглюконовой кислоты под действием фосфатазы отщепляется фосфорная кислота, и в результате образуется свободная глюконовая кислота.

Мы уже указывали ранее (стр. 377), что фосфоглюконовая кислота может подвергаться дальнейшим превращениям, в результате которых образуются фосфорные эфиры пентоз — рибозо-фосфат и рибулозо-фосфат.

Нужно сказать, что у некоторых растений, как, например, у одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella* и в клубнях картофеля, прямое окисление глюкозофосфата через фосфоглюконовую кислоту играет столь же важную роль, как и обычный путь расщепления гексоз, приводящий к образованию пировиноградной кислоты.

Как известно, некоторые плесневые грибы, например *Aspergillus niger*, при определенных условиях почти количественно превращают глюкозу в глюконовую кислоту, что послужило даже основанием для того, чтобы этот процесс получил название «глюконовокислого брожения». Однако в этом случае окисление глюкозы

происходит без предварительного ее фосфорилирования и идет благодаря каталитическому действию фермента глюкозооксидазы.

Вторым побочным путем окисления гексоз в организме, по-видимому, является образование уроновых кислот, т. е. окисление у шестого углеродного атома. По всей вероятности, этот процесс идет наиболее легко в случае окисления глюкозо-1-фосфата. Наряду с данными о широком распространении уроновых кислот в растениях мы располагаем рядом экспериментальных данных, указывающих на наличие подобного процесса в растительных тканях.

Наиболее важными и распространенными соединениями, потребляемыми в процессе брожения или дыхания, являются гексозы, точнее глюкоза и фруктоза. Однако многие растения могут использовать в качестве исходного материала для брожения и дыхания целый ряд других соединений как углеводной, так и неуглеводной природы. Прежде всего необходимо указать на то, что чрезвычайно ценным источником углеродного питания для высших и низших растений является сахароза. Это доказано с помощью стерильных культур зародышей и тканей высших растений, а также чистых культур различных микроорганизмов. По мнению С. Д. Львова, именно сахароза является важнейшим дыхательным материалом растений. Однако, по всей вероятности, она предварительно подвергается гидролитическому расщеплению под действием инвертазы или же, возможно, фосфоролизу. Многие микроорганизмы и некоторые высшие растения в качестве источника углеродного питания и дыхательного материала с чрезвычайной легкостью используют многоатомные спирты, образующиеся при восстановлении гексоз. Так, например, для *Azotobacter* и многих других микробов маннит является наилучшим источником углеродного питания. Несомненно, что маннит используется также на дыхание теми высшими растениями, в которых он накапливается в весьма значительных количествах (например, заразиха, плоды маслины, побеги ясеня).

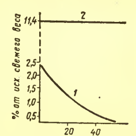


Рис. 73. Расходование на дыхание хранящимися сливами сорбита (*1*) и сахаров (*2*)

При хранении плодов груш и слив помимо сахаров на дыхание расходуется также содержащийся в них сорбит. У слив расходуется в первую очередь сорбит, а не сахар, что ясно видно из рис. 73.

При недостатке углеводов растения могут использовать на дыхание содержащиеся в них органические кислоты. Так, например, А. И. Смирновым было установлено, что «голодающие» (отделенные от растения и находящиеся в темноте) листья табака используют на дыхание значительные количества органических кислот — лимонной, яблочной и других. Целый ряд наблюдений, указывающих на использование в процессе дыхания органических

кислот, был сделан также на растениях из семейства Толстянковых (*Crassulaceae*), которые, как известно, накапливают значительные количества лимонной, изолимонной и яблочной кислот.

У прорастающих масличных семян на дыхание расходуется жир, который претерпевает гидролитическое расщепление под действием липазы, а затем образовавшиеся жирные кислоты и глицерин превращаются в сахар. Что при этом действительно происходит превращение жира в сахар, ясно видно из весьма низких дыхательных коэффициентов прорастающих масличных семян (см. стр. 392), а также из того, что по мере расходования жира происходит увеличение содержания в семенах сахаров.

Так, например, по приведенным ниже данным А. И. Ермакова и Н. Н. Иванова, в прорастающих семенах льна содержание сахаров, образующихся за счет жира, нарастает следующим образом:

Исследованный объект	*Моносахариды* %	*Сахароза* %
Исходные семена	0,34	0,62
Проростки через 8 часов прорастания	0,35	1,22
» » 27 » »	0,63	1,34
» » 49 » »	1,16	1,88
» » 71 » »	2,55	3,52

Как показали работы В. С. Буткевича, С. П. Костычева, В. О. Таусона и других, многие микроорганизмы могут прекрасно использовать в качестве источника углеродного питания и дыхательного материала хинную кислоту и целый ряд других циклических соединений: углеводороды, подобные фенантрену и нафталину, полифенолы и т. д.

Однако недостаточно ясно — могут ли подобные соединения использоваться непосредственно или же они должны, как это предполагал С. П. Костычев, предварительно превратиться в глюкозу. Этот вопрос требует дальнейшей экспериментальной разработки.

Наконец, возникает вопрос о том, может ли использоваться в качестве дыхательного материала также и белок. На этот вопрос мы должны ответить вполне утвердительно. Представление о важнейшей роли белка в процессе дыхания растений в свое время было обосновано и развито академиком И. П. Бородиным. В настоящее время несомненно, что белок, являющийся основой той формы движения материи, которую мы называем жизнью, принимает самое непосредственное участие в окислительно-восстановительных реакциях, разыгрывающихся в процессе дыхания.

Уже давно указывали на то, что углекислота, выделяемая листьями в процессе дыхания, превышает то ее количество, которое могло бы образоваться в результате полного окисления содержащихся в листьях углеводов и органических кислот. А. И. Смирнов,

работавший с «голодающими» листьями табака, на основании сделанных им анализов и расчетов пришел к заключению, что от 20 до 40% выделяемого листьями углекислого газа образуется за счет веществ неуглеводной природы. К аналогичным выводам пришли Виккери и Пючер, работавшие с изолированными листьями ревеня. На основании количественного определения различных форм углерода они пришли к заключению, что значительная часть углерода, выделяемого в результате дыхания в виде углекислого газа, происходит из белков листовой пластинки. Точно так же изучение дыхания картофельных клубней указывает на то, что часть выделяемого углекислого газа возникает в результате окислительного превращения аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

Бархаш А. П. и Тимофеева М. Я. Об этапах прямого (апотомического) окисления глюкозы. Превращение рибозо-5-фосфата в гептулозофосфат и гексозомонофосфат в животных и растительных тканях. «Биохимия», т. 20, вып. 5, стр. 623, 1955.

Бах А. Н. Собрание трудов по химии и биохимии. Изд. АН СССР, М., 1950.

Буткевич В. С. К современному состоянию вопроса о химизме процесса дыхания у растительных организмов. Сб. работ по физиологии растений памяти К. А. Тимирязева, стр. 91. Сельхозгиз М., 1941.

Вартапетян Б. Б. Кислородный обмен растений в опытах с O^{18}. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 2, стр. 213, 1961.

Вартапетян Б. Б. и Курсанов А. Л. Участие кислорода воды и кислорода атмосферы в дыхании растений. «Докл. АН СССР», т. 104, № 2, стр. 272, 1955.

Внутриклеточное дыхание. Фосфорилирующие и нефосфорилирующие реакции окисления. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум V. Изд. АН СССР, М., 1962.

Джеймс В. Дыхание растений. ИЛ, М., 1956.

Диккенс Ф. Гексомонофосфатный окислительный путь в дрожжах и животных тканях. Сб. «Современные проблемы биохимии», стр. 400, ИЛ, М., 1957.

Иванов Л. А. Об участии фосфатов в спиртовом брожении. Сб. статей, посвящ. К. А. Тимирязеву его учениками в ознаменование 70-го дня его рождения, стр. 133, 1914.

Колесников П. А. О роли гликолевой кислоты в окислительном обмене зеленых клеток. «Биохимия», т. 13, стр. 370, 1948.

Колесников П. А. Взаимосвязь между дыханием и фотосинтезом. «Успехи соврем. биол.», т. 47, вып. 3, стр. 362, 1959.

Костычев С. П. Физиология растений. Ч. 1—Химическая физиология. Гос. изд. колх. и совх. лит., М., 1933.

Костычев С. П. Избранные труды по физиологии и биохимии микроорганизмов. Изд. АН СССР, М., 1956.

Котельникова А. В. Промежуточные реакции при процессах окислительного фосфорилирования. «Успехи биологической химии», т. 4, стр. 173, 1962.

Кребс Г. и Корнберг Г. Превращение энергии в живых системах. ИЛ, М., 1959.

Кретович В. Л. Дыхание семян льна и пленчатых злаков. «Докл. АН СССР», т. 33, № 5, стр. 354, 1941.

Кретович В. Л. Физиолого-биохимические основы хранения зерна. Изд. АН СССР, М., 1945.
Курсанов А. Л. и Крюкова Н. Н. Дыхание и ферментация листьев чая. «Биохимия», т. 12, вып. 1, стр. 69, 1947.
Курсанов А. Л., Крюкова Н. Н. и Седенко Д. М. Адсорбция органических веществ и ее связь с дыханием у растений. «Биохимия», т. 13, вып. 5, стр. 456, 1948.
Лебедев А. Н. Химические исследования над внеклеточным спиртовым брожением. Прилож. к Известиям Алексеевского донского политехнич. ин-та, т. 2, Новочеркасск, 1913.
Львов С. Д. Основные направления в историческом развитии учения о дыхании растений, 8-е Тимирязевское чтение. Изд. АН СССР, М., 1950.
Мейсель М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов Изд. АН СССР, М., 1950.
Михлин Д. М. Биохимия клеточного дыхания. Изд. АН СССР, М., 1960.
Михлин Д. М. Биохимические основы дыхания растений. «Успехи соврем. биол», т. 33, вып. 1, стр. 1, 1952.
Мишустин Е. Н. Термофильные микроорганизмы в природе и практике. Изд. АН СССР, М., 1950.
Опарин А. И. Химические основы дыхательного процесса. «Вестник Ком. акад.», № 26, 1928.
Опарин А. И. Обмен веществ в сахарной свекле при низких температурах и хранение ее в замороженном виде. «Докл. АН СССР», т. 2, № 2, стр. 116, 1934.
Опарин А. И. Роль русских ученых в развитии современных представлений о химизме дыхания растений. «Уч. зап. МГУ», вып. 103, стр. 79, 1946.
Палладин В. И. Работа ферментов в живых и убитых растениях. М., 1910.
Палладин В. И. Значение воды в процессе спиртового брожения и дыхания растений. Сб. статей, посвящ. К. А. Тимирязеву его учениками в ознаменование 70-го дня его рождения, 1914.
Палладин В. И. Дыхание растений и его отношение к процессам превращения вещества и энергии в растениях. «Записки АН СССР» 8 сер., т. 37, № 3, 1930.
Прохорова А. П. и Кретович В. Л. Зависимость дыхания пшеничного зерна от температуры. «Докл. АН СССР», т. 69, стр. 401, 1949.
Ракитин Ю. В. Интенсивность накопления этилового спирта и ацетальдегида в созревающих плодах. «Биохимия», т. 10, вып. 5—6, стр. 373, 1945.
Рубин Б. А. Физиология растений. Изд-во «Советская наука», М., ч. 1, 1954; ч. 2, 1956.
Рубин Б. А. и Озерецковская О. Л. Участие апотомического окисления в дыхании высших растений. «Успехи соврем. биол.», т. 47, вып. 1, стр. 64, 1959.
Солдатенков С. В. Роль кислорода в созревании плодов. Изд. ЛГУ, 1941.
Солдатенков С. В. Научная деятельность С. П. Костычева. «Биохимия», т. 16, вып. 3, стр. 298, 1951.
Стефенсон М. Метаболизм бактерий. ИЛ, М., 1951.
Туркова Н. С. Дыхание растений. Изд. МГУ, М., 1963.
Шапошников В. Н. Техническая микробиология. Изд-во «Советская наука», М., 1948.
Энгельгардт В. А. О взаимоотношениях дыхания и брожения. «Успехи современной биологии», т. 17, вып. 3, стр. 237, 1944.
Axelrod B. a. Beevers H. Mechanisms of Carbohydrate Breakdown in Plants. «Annual Rev. Plant Physiol.», 7, 267, 1956.
Beevers H. Respiratory Metabolism in Plants. Row, Peterson and C°, New York, 1961.

Černoch M. Přima oxydace cukru (Pentosový cyklus). «Chemické Listy», 51 (81), N 6, 1211, 1957.
Ducet G. a. Rosenberg A. J., Leaf Respiration. «Annual Rev. Plant Physiol.» 13, 171, 1962.
Green D. E. a. Hatefi I. The Mitochondrion and Biochemical Machines. «Science», 133, N 3445, 13, 1961.
Hackett D. P. Respiratory Mechanisms in Higher Plants. «Annual Rev. Plant Physiol.», 10, 113, 1959.
Haehn H. Biochemie der Gärungen, W. de Gruyter, Berlin, 1952.
Handbuch der Pflanzenphysiologie. Herausgegeben von W. Ruhland. Band 12 «Pflanzenatmung einschliesslich Gärungen und Säurestoffwechsel». Springer V-g, Berlin, 1960.
Hartree F. F. Cytochrome in Higher Plants. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 18, I, 1957.
Hatch M. D. a. Turner J. F. The Aerobic Inhibition of Glycolysis in Bean-Seed Extracts and its Possible Relationship to the Pasteur Effect. «Biochem. J.», 72, 524, 1959.
James W. O. Reaction Paths in the Respiration of the Higher Plants. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.», 18, 281, 1957.
Krebs H.A. Der Citronensäurecyclus, «Angew. Chemie», 66, 313, 1954.
Kornberg H. L. a. Krebs H. A. Synthesis of Cell Constituents from C_2 — Units by a Modified Tricarboxylic Acid Cycle. «Nature», 179, No. 4568, 988, 1957.
Kornberg H. L. a. Beevers H. The Glyoxylate Cycle as a Stage in the Conversion of Fat to Carbohydrate in Castor Beans. «Biochim. et biophys. acta», 26, 531, 1957.
Leninger A. L. Energy Transformation in the Cell. «Scientific American», 202, 102, 1961.
Luckner M. Ubichinon (Coenzym Q) und oxidative Phosphorylierung, «Pharmazie», 16, 537, 1961.
Quinones in Electron Transport, A Ciba Foundation Symposium, Editors G.E.W. Wolstenholme and C. M. O. Connor; J. a. A. Churchill Ltd, 1961.
Wiame J. M. Le rôle biosynthétique du cycle des acides tricarboxyliques. «Advances Enzymol. and Related Subjects Biochem.» 18, 241, 1957.

Глава XI

ОБМЕН ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ У РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Как мы уже указывали ранее, органические кислоты алифатического ряда могут накапливаться в растениях в весьма значительных количествах и играют важную роль в обмене веществ растительных организмов. Рассмотрение химизма процесса дыхания (глава X) ясно показало, что органические кислоты образуются в процессе дыхания растений и представляют собой продукты неполного окисления сахара. Вместе с тем они являются исходным строительным материалом для синтеза самых различных соединений — углеводов, аминокислот и жиров.

ОБМЕН ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ У НИЗШИХ РАСТЕНИЙ

Образование и превращение органических кислот весьма детально исследовано у микроорганизмов — бактерий и особенно у плесневых грибов. Это объясняется тем обстоятельством, что многие из органических кислот, образуемых бактериями и плесневыми грибами, играют важную роль в различных отраслях промышленности, в частности в пищевой промышленности. Таковы, например, лимонная, фумаровая, глюконовая, молочная, итаконовая и уксусная кислоты. Необходимость разработки наиболее эффективных промышленных схем производства этих органических кислот явилась причиной интенсивного экспериментального исследования условий их образования и превращения под влиянием жизнедеятельности микроорганизмов.

Необходимо отметить, что крупные успехи в изучении обмена органических кислот у низших растительных организмов связаны с именами выдающегося советского биохимика — профессора В. С. Буткевича, известного польского исследователя Т. Хшонща, французского ученого М. Мойара и работавшего в Праге К. Бернгауэра.

Интенсивное изучение образования органических кислот плесневыми грибами началось в конце прошлого столетия, после того как К. Вемеру в 1891 г. удалось показать, что многие плесневые

грибы, культивируемые на сахарных растворах или на пептоне, образуют значительные количества лимонной и щавелевой кислот. Позднее было установлено, что в культурах плесневых грибов образуются также фумаровая, глюконовая, янтарная, яблочная и другие органические кислоты.

В связи с большим значением лимонной кислоты в пищевой промышленности, а также вследствие ее применения в качестве консерванта при переливании крови, условия ее образования и превращения культурами плесневых грибов были подвергнуты особенно детальному изучению. Установлено, что лимонную кислоту образуют многие плесневые грибы, принадлежащие к родам *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* и др. Опыты Буткевича и его сотрудников показали, что при определенных условиях лимонная кислота образуется в количестве 90—100% от взятого сахара.



Буткевич
Владимир Степанович
(1872—1942)

Решающими факторами, от которых зависит образование лимонной кислоты в культурах плесневых грибов, являются подходящий штамм гриба и достаточная аэрация культуры. Благоприятное влияние кислорода на образование лимонной кислоты культурами плесневых грибов установлено путем культивирования этих последних в атмосфере чистого кислорода, а также путем опытов, в которых применялось усиленное встряхивание или перемешивание культуры. Таким образом, этими опытами было ясно показано, что лимонная кислота образуется лишь при доступе молекулярного кислорода и что, следовательно, ее образование теснейшим образом связано с процессом дыхания.

Наилучшим исходным веществом для образования лимонной кислоты является сахар. Однако она может образовываться в значительных количествах также и из других веществ, являющихся продуктами диссимиляции сахара. Так, например, лимонная кислота легко образуется из солей уксусной кислоты, а также из этилового спирта. Точно так же установлено, что плесневой гриб *Aspergillus niger* превращает аконитовую кислоту в лимонную с выходом, равным 25%; при этом весьма существенно, что эта реакция является обратимой и гриб может также образовывать аконитовую кислоту из лимонной. Для многих плесневых грибов дока-

зана возможность накопления значительных количеств лимонной кислоты за счет фумаровой, яблочной и янтарной кислот. Вместе с тем установлено, что плесневые грибы образуют фумаровую и янтарную кислоты непосредственно из сахара. Так, например, установлено, что при культивировании на растворе глюкозы некоторые плесневые грибы из рода *Aspergillus* превращают до 80% поглощенного сахара в фумаровую кислоту; одновременно образуется также заметное количество янтарной кислоты. Было также установлено, что фумаровая и янтарная кислоты под влиянием жизнедеятельности плесневых грибов легко образуются из солей уксусной кислоты и из спирта.

Весьма существенным является то, что фумаровая, яблочная и янтарная кислоты могут взаимно превращаться друг в друга под влиянием плесневых грибов. Так, например, в культурах грибов *Rhizopus* или *Mucor*, образующих фумаровую кислоту, с возрастом эта последняя кислота исчезает, а количество яблочной кислоты, накапливающейся в молодых культурах в небольшом количестве, постепенно возрастает. Обратимое превращение фумаровой кислоты в яблочную происходит под действием фермента фумаратгидратазы, который содержится в плесневых грибах. Яблочная кислота легко образуется также в культурах *Aspergillus niger* из янтарной кислоты.

Важную роль в процессе образования фумаровой, янтарной, яблочной и лимонной кислот играет усвоение плесневыми грибами углекислого газа. Так, например, гриб *Rhizopus nigricans*, культивируемый на растворе глюкозы с углекислым кальцием, в анаэробных условиях образует значительные количества фумаровой кислоты. Как показали детальные исследования, основанные на точном учете потребляемых и образующихся веществ, образование фумаровой кислоты при этих условиях идет благодаря реакции ферментативного связывания углекислого газа пировиноградной кислотой:

$$\underset{\text{пировиноградная кислота}}{CO_2 + CH_3COCOOH} \rightleftarrows \underset{\text{щавелевоуксусная кислота}}{HOOC \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH.}$$

У плесневого гриба *Rhizopus nigricans* найден фермент оксалоацетат-декарбоксилаза, катализирующий эту реакцию. Образующаяся в результате этой реакции щавелевоуксусная кислота дает затем яблочную кислоту, а эта последняя превращается в фумаровую.

Прямое доказательство важной роли, которую играет реакция ферментативного связывания углекислого газа с пировиноградной кислотой в процессе образования плесневыми грибами яблочной и фумаровой кислот, было получено с помощью меченого (изотопного) углерода C^{11}. При культивировании гриба *Rhizopus nigricans* на средах, содержащих углекислый газ с изотопным углеродом, образуется фумаровая кислота, которая также содержит изотопный углерод C^{11}.

Таким образом, очевидно, что ферментативное связывание углекислого газа с пировиноградной кислотой является именно той реакцией, благодаря которой осуществляется образование четырехуглеродных кислот (щавелевоуксусной, яблочной, фумаровой и янтарной) из трехуглеродной пировиноградной кислоты, возникающей на первых этапах диссимиляции гексозы.

Образовавшаяся щавелевоуксусная кислота, вступая далее во взаимодействие с уксусной кислотой или ее производным, дает лимонную кислоту (см. на стр. 415 о цикле трикарбоновых и дикарбоновых кислот).

О том, что действительно образование лимонной кислоты плесневыми грибами идет таким образом, свидетельствуют результаты опытов, в которых плесневой гриб *Aspergillus niger* культивировали на растворе сахара в присутствии CO_2, меченного радиоактивным углеродом C^{11}. Образовывавшаяся при этом лимонная кислота содержала радиоактивный углерод. При этом весьма существенно, что меченый углерод содержался только лишь в карбоксильных группах лимонной кислоты, что, опять-таки, свидетельствует об использовании усвоенного грибом радиоактивного углекислого газа на синтез карбоксильных групп щавелевоуксусной и лимонной кислот.

Таким образом, имеется достаточно оснований для того, чтобы полагать, что лимонная, яблочная, фумаровая и янтарная кислоты образуются плесневыми грибами благодаря наличию у них ферментативных систем, обеспечивающих превращения, входящие в цикл трикарбоновых и дикарбоновых кислот.

Однако было высказано предположение, что янтарная и фумаровая кислоты могут синтезироваться микроорганизмами из уксусной кислоты иным путем. Этот путь заключается в конденсации двух молекул уксусной кислоты, причем эта конденсация сопровождается отнятием двух атомов водорода. В результате образуется янтарная кислота, которая, подвергаясь в свою очередь дегидрированию под действием соответствующей дегидрогеназы, дает фумаровую кислоту:

$$\begin{matrix} CH_3\cdot COOH \\ + \\ CH_3\cdot COOH \end{matrix} \xrightarrow{-2H} \begin{matrix} CH_2\cdot COOH \\ | \\ CH_2\cdot COOH \end{matrix} \xrightarrow{-2H} \begin{matrix} CH\cdot COOH \\ \| \\ CH\cdot COOH \end{matrix}$$

Образование фумаровой кислоты из этилового спирта происходит благодаря предварительному окислению этого последнего в ацетальдегид, который, подвергаясь дальнейшему окислению, дает уксусную кислоту:

$$\underset{\text{спирт}}{CH_3\cdot CH_2\ OH} \xrightarrow{-2H} \underset{\text{ацетальдегид}}{CH_3\cdot CHO} \xrightarrow[-2H]{+HOH} \underset{\text{уксусная кислота}}{CH_3\cdot COOH.}$$

Некоторые бактерии из рода *Pseudomonas*, некоторые штаммы кишечной палочки (*Escherichia coli*), многие плесневые грибы и высшие растения могут синтезировать четырехуглеродные органические кислоты, в частности, яблочную кислоту, из уксусной кислоты благодаря действию фермента малатсинтазы (см. стр. 418) в соответствии со следующим уравнением:

уксусная кислота + кофермент А + АТФ + глиоксилевая кислота $\xrightarrow{\text{малатсинтаза}}$ яблочная кислота + кофермент А + АМФ + пирофосфат.

Фумаровая кислота не является единственной ненасыщенной кислотой, образуемой плесневыми грибами. Гриб *Aspergillus terreus* обладает специфической способностью образовывать из глюкозы ненасыщенную кислоту, близкую по своей химической природе к фумаровой и получившую название итаконовой кислоты:

$$\begin{array}{l} CH_2{=}C{-}COOH \\ \quad\;\; | \\ \quad\; CH_2{-}COOH \end{array}$$

Некоторые штаммы *Aspergillus terreus* превращают в итаконовую кислоту до 35% глюкозы.

Итаконовая кислота применяется в химической промышленности для синтеза пластических масс.

Относительно ферментативных реакций, приводящих к образованию итаконовой кислоты, почти ничего неизвестно. Предполагают, что она образуется из цис-аконитовой кислоты путем ее декарбоксилирования:

$$\begin{array}{c} HOOC \cdot CH_2 \cdot C \cdot COOH \\ \diagdown\!\diagdown \\ CH \cdot COOH \\ \text{цис-аконитовая кислота} \end{array} \xrightarrow{-CO_2} \begin{array}{c} HOOC \cdot CH_2 \cdot C \cdot COOH \\ \| \\ CH_2 \\ \text{итаконовая кислота} \end{array}$$

Однако данная схема является чисто гипотетической и не подкреплена экспериментальными данными.

Некоторые микроорганизмы обладают специфической способностью осуществлять прямое окисление за счет кислорода воздуха тех или иных органических соединений. При этом не происходит разрыва углеродной цепочки окисляемого соединения, и в результате окисления образуются не углекислый газ и вода, а органические кислоты, содержащие еще большой запас энергии. Таким образом, количество энергии, выделяющейся при подобного рода окислительных процессах, неправильно называемых иногда «окислительными брожениями», значительно меньше, чем при дыхании. Типичными примерами окислительных процессов подобного рода являются так называемые уксуснокислое и глюконовокислое «брожения».

При уксуснокислом «брожении» этиловый спирт окисляется в уксусную кислоту особыми микроорганизмами, получившими назва-

ние уксуснокислых бактерий. Суммарное уравнение уксуснокислого «брожения» имеет следующий вид:

$$CH_3 \cdot CH_2 \cdot OH + O_2 = CH_3 \cdot COOH + H_2O.$$

В результате окисления этилового спирта уксуснокислыми бактериями выделяется 117 *ккал* на одну грамм-молекулу окисленного спирта. Полное окисление этилового спирта до воды и углекислого газа сопровождается выделением 325 калорий. Таким образом, при уксуснокислом «брожении» образуется почти втрое меньше энергии, чем при полном окислении этилового спирта.

Окислив весь имеющийся в их распоряжении спирт в уксусную кислоту, уксуснокислые бактерии начинают далее окислять эту последнюю до углекислоты и воды. Подобное переокисление иногда является причиной значительных потерь при производстве уксуса.

Как показали исследования Г. Бертрана, некоторые микроорганизмы из группы уксуснокислых бактерий вызывают окисление многоатомных спиртов: маннита, глицерина, сорбита. Так, например, *Bacterium xylinum*, *B. melanogenum* и *B. suboxydans* специфически окисляют в молекуле многоатомного спирта только определенную вторичную спиртовую группу. Таким образом, в результате окисления из сорбита образуется сорбоза, из маннита — фруктоза, а из глицерина — диоксиацетон.

Окисляемый спирт	*Продукт окисления*
глицерин	диоксиацетон
L-сорбит	L-сорбоза
D-маннит	D-фруктоза

```
         H                          HO · CH2—C—CH2OH
         |                                   ||
HO · H2C—C—CH2OH                             O
         |                              диоксиацетон
         OH
      глицерин

     H  HOH  H                                H OH H
     |  |  |  |                               |  |  |
HO · H2C—C—C—C—C—CH2OH           HO · CH2—C—C—C—C—CH2OH
     |  |  |  |                            ||  |  |  |
     OHOHH  OH                             O  OH H OH
     L-сорбит                              L-сорбоза

     H  HOHOH                                · HOHOH
     |  |  |  |                                |  |  |
HO · H2C—C—C—C—C—CH2OH           HO · H2C—C—C—C—C—CH2OH
     |  |  |  |                            ||  |  |  |
     OHOHH  H                              O  OHH  H
     D-маннит                              D-фруктоза
```

К «окислительным брожениям» причисляют также окисление глюкозы в глюконовую кислоту, вызываемое некоторыми бактериями и плесневым грибом *Aspergillus niger*.

Глюконовая кислота широко применяется в фармацевтической промышленности и в медицине. Поэтому процесс превращения глюкозы в глюконовую кислоту, происходящий под влиянием микроорганизмов, исследован довольно хорошо. Как показали исследо-

вания, важнейшими факторами, от которых зависит накопление глюконовой кислоты в культурах плесневых грибов, являются состав питательной среды, доступ воздуха к культуре и штамм применяемого гриба. В. С. Буткевичем, а также Е. Кардо-Сысоевой установлено, что при выращивании в определенных условиях плесневого гриба на растворах сахарозы 100% этой последней превращается в глюконовую кислоту.

Еще в 1904 г. Н. А. Максимов показал, что из мицелия *Aspergillus niger* может быть выделен бесклеточный ферментный препарат, производящий окисление глюкозы, сопровождающееся поглощением кислорода. Это наблюдение было затем подтверждено рядом исследователей, а фермент получил название глюкозооксидазы. Окисляющий глюкозу фермент является двухкомпонентным и может быть разложен на белковый носитель и активную группу, содержащую витамин B_2 (рибофлавин). Катализируемая чистыми препаратами глюкозооксидазы реакция окисления глюкозы в глюконовую кислоту сопровождается образованием перекиси водорода:

$$\underset{\text{глюкоза}}{CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot CHO} + H_2O + O_2 \rightarrow$$

$$\rightarrow \underset{\text{глюконовая кислота}}{CH_2OH(CHOH)_4 \cdot COOH} + H_2O_2.$$

В культуре плесневого гриба образовавшаяся перекись водорода немедленно разлагается каталазой, и поэтому суммарное уравнение окисления грибами глюкозы в глюконовую кислоту имеет следующий вид:

$$CH_2OH(CHOH)_4CHO + {}^1/_2O_2 \rightarrow CH_2OH(CHOH)_4 \cdot COOH.$$

Образовавшаяся из глюкозы глюконовая кислота под действием культуры *Aspergillus niger* может подвергнуться дальнейшему превращению в лимонную кислоту.

Плесневые грибы обладают способностью окислять альдегидную группу не только глюкозы, но также и других моносахаридов, с образованием соответствующих кислот. Так, например, некоторые штаммы *Aspergillus niger* на средах, содержащих мел, превращают до 70% маннозы в аналогичную глюконовой кислоте манноновую кислоту. Установлено также, что мицелий гриба *Fusarium lini* легко окисляет альдегидную группу пентоз, превращая арабинозу в арабоновую кислоту, а ксилозу — в ксилоновую кислоту.

Значительный биохимический интерес представляет образование плесневыми грибами кодзиевой кислоты. Эта кислота образуется в культурах плесневых грибов *Aspergillus oryzae* и *Aspergillus flavus*, применяемых в Японии для изготовления из риса алкогольного напитка, называемого саке́.

Как видно из сопоставления приведенных ниже структурных формул глюкозы и кодзиевой кислоты, эта последняя могла бы рассматриваться как производное глюкозы, образующееся в результате отнятия у нее двух молекул воды, а также двух атомов водорода у третьего углеродного атома:

глюкоза *кодзиевая кислота*

Однако такое упрощенное представление не соответствует ряду наблюдений. Из этих наблюдений особенно существенным является то, что кодзиевая кислота легко образуется из пентоз. Если бы образование кодзиевой кислоты происходило путем описанного выше прямого дегидратирования и дегидрирования молекулы глюкозы, то из пентоз должна была бы образоваться аналогичным путем пиромеконовая кислота:

ксилоза *пиромеконовая кислота*

Однако она не образуется, а получается кодзиевая кислота. Наряду с этим установлено, что диоксиацетон, глицерин, глицериновый альдегид, этиловый спирт и другие вещества, содержащие в своей молекуле число углеродных атомов меньшее, чем в молекуле кодзиевой кислоты, все же являются прекрасными исходными веществами для образования из них кодзиевой кислоты под влиянием плесневых грибов. Так, например, плесневой гриб *Aspergillus oryzae* при культивировании его на диоксиацетоне превращает около 55% этого последнего в кодзиевую кислоту. Все эти факты приводят к заключению, что кодзиевая кислота образуется синтетическим путем благодаря конденсации триоз—диоксиацетона или глицеринового альдегида.

Экпериментальное доказательство подобного синтетического пути образования кодзиевой кислоты плесневыми грибами имело бы большое принципиальное значение для биохимии, поскольку в растениях широко распространены гетероциклические соединения, которые так же, как и кодзиевая кислота, являются производными пирона. К числу подобных соединений принадлежат, например, рассмотренные нами ранее флавонолы (см. стр. 195).

В культурах плесневых грибов могут накапливаться значительные количества щавелевой кислоты. Способность образовывать эту кислоту свойственна самым различным грибам. Наиболее подробно изучено образование щавелевой кислоты в культурах плесневых грибов, принадлежащих к родам *Aspergillus*, *Mucor* и *Penicillium*.

Характерной особенностью процесса образования плесневыми грибами щавелевой кислоты является то, что она образуется из са-

мых разнообразных веществ: углеводов, пептона, глицерина, солей уксусной, винной, янтарной, фумаровой, лимонной, яблочной и других кислот. Наиболее важным условием накопления щавелевой кислоты в культуре плесневого гриба является наличие в среде свободных оснований, нейтрализующих образующуюся щавелевую кислоту. Кислая среда препятствует накоплению оксалатов. Влиянием кислотности объясняется также зависимость между накоплением щавелевой кислоты в культуре гриба и предоставленным ему источником азота. Щавелевая кислота накапливается в значительных количествах лишь при культивировании грибов на средах, содержащих физиологически щелочные источники азота — азотнокислый калий, натрий или кальций. Весьма интенсивное образование щавелевой кислоты при культивировании плесеней на пептоне объясняется, по-видимому, накоплением в среде значительного количества аммиака.

Являясь продуктом неполного окисления сахара плесневыми грибами, щавелевая кислота может подвергаться дальнейшему окислению с образованием, в конечном счете, углекислого газа и воды.

Каким же образом можно представить себе химизм образования щавелевой кислоты плесневыми грибами? Прежде всего необходимо отметить, что факт образования щавелевой кислоты из множества различных органических соединений свидетельствует о том, что вряд ли существует какой-либо единый путь ее образования. Вместе с тем имеющиеся в нашем распоряжении факты указывают на то, что решающую роль в образовании щавелевой кислоты из сахара играет уксусная кислота. Об этом свидетельствует прежде всего факт накопления чрезвычайно больших количеств щавелевой кислоты в культурах плесеней на солях уксусной кислоты. Так, например, В. С. Буткевичу и М. В. Федорову удалось показать, что грибы превращают в оксалат до 93—100% присутствующего в среде ацетата.

По всей вероятности, образование щавелевой кислоты из уксусной происходит путем окисления этой последней в гликолевую и далее в глиоксилевую кислоту. Гликолевая и глиоксилевая кислоты могут быть обнаружены в культурах гриба *Aspergillus niger*, развивающегося на солях уксусной кислоты; вместе с тем показано, что плесневые грибы могут окислять гликолевую кислоту в глиоксилевую и в щавелевую. Таким образом, этот путь образования щавелевой кислоты может быть представлен следующим образом:

$$\underset{\text{уксусная кислота}}{\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ COOH \end{matrix}} \longrightarrow \underset{\text{гликолевая кислота}}{\begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ COOH \end{matrix}} \longrightarrow \underset{\text{глиоксилеаая кислота}}{\begin{matrix} CHO \\ | \\ COOH \end{matrix}} \longrightarrow \underset{\text{щавелевая кислота}}{\begin{matrix} COOH \\ | \\ COOH \end{matrix}}$$

Возможно, что в культурах плесневых грибов образование щавелевой кислоты из ацетата может идти также путем описанной выше конденсации двух молекул уксусной кислоты с образованием

янтарной кислоты, которая затем превращается в фумаровую, яблочную и далее в щавелевоуксусную кислоту; эта последняя, присоединяя воду, гидролизуется, давая щавелевую и уксусную кислоты.

Таким образом, последовательность образования и превращения кислот при подобном способе биосинтеза щавелевой кислоты может быть представлена следующей схемой:

уксусная кислота → янтарная кислота → фумаровая кислота → яблочная кислота → щавелевоуксусная кислота → щавелевая кислота + уксусная кислота

Наконец, имеется еще третий путь — образование щавелевой кислоты из двух молекул муравьиной кислоты:

$$\begin{matrix} HCOOH \\ + \\ HCOOH \end{matrix} \xrightarrow{-2H} \begin{matrix} COOH \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

Образование щавелевой кислоты этим путем происходит при культивировании плесневых грибов на муравьиной кислоте и осуществляется благодаря действию фермента формиатдегидрогеназы.

С другой стороны, грибы легко превращают щавелевую кислоту в муравьиную кислоту и углекислый газ. Это превращение идет следующим образом:

$$\begin{matrix} COOH \\ | \\ COOH \end{matrix} \rightarrow CO_2 + HCOOH.$$

Излагая взгляды об условиях и путях образования органических кислот микроорганизмами, мы подчеркивали, что кислоты представляют собой продукты неполного окисления сахара. Однако необходимо отметить, что сахар не является единственным исходным веществом для образования органических кислот. Они могут образовываться и из других соединений различной химической природы. Так, например, В. С. Буткевич показал, что лимонная кислота легко образуется при культивировании плесневых грибов на питательных средах, в которых единственным источником углерода является хинная кислота. Происходит ли при этом, как предполагал академик С. П. Костычев, образование гексозы, или же превращение хинной кислоты идет каким-то другим путем, пока неясно. Однако В. С. Буткевичу удалось установить, что превращение хинной кислоты в лимонную сопровождается накоплением веществ фенольного характера. Мы также отмечали выше, что органические кислоты образуются в заметных количествах при культивировании плесневых грибов на пептоне. Этот факт указы-

вает на возможность образования органических кислот из аминокислот. Специальные исследования, имевшие целью выяснение условий и путей превращения аминокислот под влиянием микроорганизмов в органические кислоты, показали, что последние действительно могут образовываться таким образом. Так, например, аспарагиновая кислота превращается некоторыми бактериями в фумаровую кислоту; это превращение происходит благодаря действию содержащегося в них фермента аспартат-аммиак-лиазы (см. стр. 301). Янтарная кислота под влиянием дрожжей может образовываться из глютаминовой кислоты, фумаровая и щавелевоуксусная — из аспарагиновой, а пировиноградная — из аланина.

Таким образом, обмен органических кислот у микроорганизмов теснейшим образом связан не только с обменом углеводов, но также с превращениями белковых веществ, ароматических и гидроароматических соединений.

ОБМЕН ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Мы уже указывали ранее, что органические кислоты алифатического ряда накапливаются во многих высших растениях в очень больших количествах. Наиболее распространены в них лимонная, яблочная и щавелевая кислоты. Преимущественное нахождение в растениях одной из этих кислот привело к широко распространенному взгляду о том, что все высшие растения якобы могут быть разделены в зависимости от природы главной из содержащихся в них кислот, на лимоннокислые, яблочнокислые и щавелевокислые.

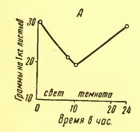
Нужно, однако, отметить, что подобного рода представление не имеет действительного научного значения и является неправильным. Содержание органических кислот в растениях не может рассматриваться статически, без связи со всем характером обмена веществ у данного растения, без связи с влиянием внешней среды на накопление и превращение кислот в растении. Действительно, можно привести ряд примеров, указывающих на условность подобного рода классификации. Так, например, хотя апельсинное дерево, в плодах которого накапливаются чрезвычайно большие количества лимонной кислоты, должно быть отнесено к растениям лимоннокислого типа, мы не можем этого сделать, поскольку в листьях его преобладает яблочная кислота. С другой стороны, если мы исследуем состав органических кислот, содержащихся в растении *Bryophyllum calycinum*, то убедимся в том, что он чрезвычайно сильно изменяется в течение суток, а также в зависимости от таких факторов, как освещение и температура. Такие же изменения в составе органических кислот в зависимости от условий среды происходят также у целого ряда других растений.

Накопление в растении той или иной кислоты теснейшим образом связано со всем комплексом превращений органических кислот во время развития растения, с типом обмена веществ вообще и его

зависимостью от окружающих условий внешней среды. Различия в содержании отдельных органических кислот в данном растении являются следствием различий в соотношении скоростей ферментативных реакций, лежащих в основе образования и превращения комплекса органических кислот.

Среди высших растений может быть отмечена большая группа организмов, резко выделяющаяся по чрезвычайно высокому содержанию органических кислот в стеблях и листьях. Эта группа растений, получившая название суккулентов, объединяет растения, принадлежащие к самым разнообразным семействам. Все суккуленты имеют мясистые, сочные листья и стебли. Типичными суккулентами являются алоэ, кактусы, бегония, очиток, толстянки.

Благодаря высокому содержанию органических кислот и глубоким их превращениям, происходящим под влиянием условий внешней среды, суккуленты особенно часто используются для изучения обмена органических кислот у высших растений.



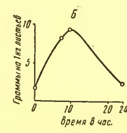


Рис. 74. Суточная динамика содержания органических кислот (*А*) и крахмала (*Б*) в листьях *Bryophyllum*

Уже давно было отмечено, что у суккулентов происходят весьма существенные изменения в содержании органических кислот в течение суток. В этом отношении особенно ярким примером являются изменения, наблюдаемые у *Bryophyllum calycinum*. Утром листья этого растения имеют кислый вкус и содержат наибольшее количество органических кислот; к полудню и, особенно, к вечеру содержание в них кислот резко понижается и они становятся безвкусными, а вечером даже горькими. Эти изменения в содержании кислот зависят от фотосинтетической деятельности листа и поэтому теснейшим образом связаны с изменениями в содержании углеводов, прежде всего крахмала — уменьшение содержания органических кислот сопровождается накоплением крахмала и обратно. Теснейшая взаимосвязь, наблюдаемая у *Bryophyllum* в течение суток между содержанием органических кислот и содержанием крахмала, подробно исследована Г. Виккери с сотрудниками и наглядно иллюстрируется кривыми, представленными на рис. 74.

Большое влияние на содержание органических кислот у сукку-

лентов оказывает также температура: при более низких температурах (10° С и ниже) кислоты накапливаются особенно интенсивно, а при повышении температуры до 25—30°С количество их резко понижается.

Колебания в содержании органических кислот и крахмала, происходящие у суккулентов в течение суток, теснейшим образом связаны с изменениями газообмена. При понижении количества органических кислот выделяется больше углекислого газа, чем поглощается кислорода, вследствие чего отношение CO_2/O_2 достигает величин, колеблющихся между 1,35 и 1,70. Наоборот, накопление органических кислот сопровождается значительным понижением отношения объемов, выделяемого углекислого газа и поглощаемого кислорода. При максимальном образовании органических кислот отношение CO_2/O_2 равно 0; в этом случае поглощаются значительные количества кислорода, а углекислый газ не выделяется совершенно, так как он используется на синтез органических кислот.

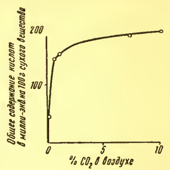


Рис. 75. Влияние концентрации CO_2 в воздухе на накопление органических кислот в листьях *Bryophyllum*

Использование углекислого газа в процессе биосинтеза кислот у высших растений очевидно не только из характера изменений отношения CO_2/O_2, но также из целого ряда наблюдений, свидетельствующих о том, что накопление органических кислот у суккулентов зависит от концентрации CO_2 в воздухе. Так, например, по Д. Боннеру, количество органических кислот, накапливающихся в отделенных от растения и находящихся в темноте листьях *Bryophyllum*, теснейшим образом связано с концентрацией углекислого газа в воздухе. Как видно из рис. 75, по мере повышения концентрации CO_2 до 0,1% количество образующихся в листе органических кислот возрастает чрезвычайно сильно; дальнейшее повышение концентрации CO_2 вызывает значительно более медленное увеличение содержания кислот.

Органические кислоты, образующиеся в листьях *Bryophyllum* в темноте в присутствии повышенных концентраций углекислого газа, так же как и при естественных условиях, состоят из лимонной, яблочной и изолимонной кислот. Однако повышение содержания в воздухе CO_2 особенно способствует увеличению содержания в листьях яблочной кислоты.

Факт теснейшей зависимости между накоплением органических кислот в листьях и содержанием углекислого газа в воздухе дает возможность объяснить происходящие в течение суток колебания в содержании органических кислот в листьях этого растения. В тем-

ноте парциальное давление в листьях углекислого газа, выделяемого в процессе дыхания, возрастает, вследствие чего он быстрее используется на синтез органических кислот.

На свету выделяемый в результате дыхания углекислый газ немедленно разлагается благодаря процессу фотосинтеза, вследствие чего происходит понижение парциального давления CO_2 в тканях и ослабление интенсивности биосинтеза органических кислот.

Благоприятное влияние пониженных температур на образование органических кислот у суккулентов объясняется, по всей вероятности, тем, что при пониженных температурах растворимость CO_2 повышается.

Ускорение биосинтеза органических кислот под влиянием повышенного содержания в воздухе углекислого газа, как мы отмечали уже выше, наблюдается также и у микроорганизмов.

И в том, и в другом случае благоприятное влияние повышенных концентраций CO_2 на биосинтез органических кислот объясняется гетеротрофной фиксацией углекислого газа на кетокислотах, подобной ферментативному синтезу щавелевоуксусной кислоты из CO_2 и пировиноградной кислоты (см. стр. 433). Наличие соответствующих ферментов в растениях в настоящее время установлено совершенно определенно. Участие этих ферментативных систем в биосинтезе органических кислот у высших растений будет рассмотрено нами ниже.

Необходимо, однако, отметить, что благоприятное влияние повышенных концентраций CO_2 на образование органических кислот удается наблюдать только лишь в случае суккулентов. Что касается несуккулентных растений, то подобного рода зависимость пока не установлена.

Так же, как и у плесневых грибов, очень большое влияние на накопление органических кислот в высших растениях оказывает характер азотистого питания. И в том, и в другом случае зависимость одна и та же — питание физиологически кислыми аммонийными солями приводит к значительному понижению накопления органических кислот, в то время как нитраты оказывают обратное действие. Эта зависимость хорошо иллюстрируется нижеследующими данными А. В. Владимирова, полученными при изучении влияния форм азота на химический состав листьев махорки:

Форма азота	*Общая кислотность в миллиэкв. на 100 г воздушно-сухого вещества*	*Лимонная кислота в процентах на воздушно-сухое вещество листа*
Аммоний	141,2	0,55
Нитрат	270,9	3,24

Аналогичные данные были получены при питании различными источниками азота табака, томатов, бегонии, *Bryophyllum calycinum*.

Опыты с ваккуум-инфильтрацией в листья махорки аммонийных солей и нитратов также показали благоприятное влияние нитратов и понижение содержания лимонной кислоты при инфильтрации аммонийных солей.

По-видимому, стимулирующее действие нитратов на образование органических кислот у высших растений связано с тем, что накапливающиеся в тканях катионы, остающиеся в избытке после усвоения растением иона азотной кислоты, нейтрализуя органические кислоты, способствуют, таким образом, их накоплению в растении.

Необходимо отметить, что условия внешней среды оказывают существенное влияние не только на общее содержание в растении органических кислот, но также на их качественный состав. Так, например, установлено, что в растениях *Bryophyllum*, развивающихся в тени, накапливается меньше лимонной кислоты, чем в таких же растениях, выросших при достаточно хорошем освещении. Большое влияние на соотношение органических кислот оказывает также характер минерального питания растений. Так, М. П. Пятницким установлено, что введение в листья табака путем засасывания через черешки ионов магния приводит к повышению содержания в листьях лимонной кислоты и понижению содержания яблочной кислоты. По всей вероятности, ион магния является активатором ферментативной системы, катализирующей превращение яблочной кислоты в лимонную.

Каким же образом мы можем в настоящее время представить себе химизм образования органических кислот в высших растениях?

Имеющийся фактический материал определенно свидетельствует о том, что образование органических кислот как у низших, так и у высших растений, теснейшим образом связано с процессом дыхания и диссимиляцией углеводов. На это указывает целый ряд экспериментальных данных. Мы уже приводили выше результаты исследований над изменением содержания органических кислот и крахмала у *Bryophyllum*, из которых очевидно, что превращения органических кислот неразрывно связаны с превращениями углеводов. Весьма убедительные данные, свидетельствующие о том, что источником образования органических кислот в высших растениях являются сахара, были получены О. Ю. Соболевской и В. С. Буткевичем. Путем вакуум-инфильтрации они вводили в листья махорки стерильный раствор глюкозы; в контрольных опытах в листья инфильтрировалась стерильная вода. Затем инфильтрированные листья выдерживались в течение определенного времени в камере с влажным воздухом, после чего в них определялась лимонная кислота. Опыты показали, что инфильтрация глюкозы в листья резко стимулировала образование в них лимонной кислоты. Это ясно видно из следующих данных:

Листья	*Вариант опыта*	*Прирост лимонной кислоты в процентах от исходной величины*
Молодые	Опыт	+119,4
»	Контроль	+18,9
Спелые	Опыт	+159,3
»	Контроль	+89,4

Поскольку, как мы уже указывали, процесс образования органических кислот у растений является следствием окислительной диссимиляции сахаров, возникает, естественно, предположение, что в этом процессе должны играть важную роль ферментативные превращения, входящие в цикл трикарбоновых и дикарбоновых кислот. В пользу этого предположения говорит целый ряд экспериментальных данных, полученных при изучении химизма образования органических кислот в высших растениях.

Прежде всего необходимо подчеркнуть, что в растении отдельные органические кислоты могут легко превращаться друг в друга. Так, например, при томлении и сушке табачных листьев содержание в них яблочной кислоты значительно уменьшается, а лимонной соответственно увеличивается. Такая же картина наблюдается при выдерживании живых табачных листьев в темноте. Это ясно видно из данных Г. Виккери, приведенных в табл. 21.

Таблица 21

Изменение содержания органических кислот в листьях табака в темноте за 48 часов (в *м/экв* на *кг* сырого веса)

Кислоты	Исходная величина	После 48 часов в темноте	Изменение
Щавелевая	26,8	28,2	+1,4
Лимонная	43,1	92,6	+49,5
Яблочная	215,0	159,3	−55,7
Неизвестные кислоты	79,9	94,4	+14,5
Сумма органических кислот	364,0	373,7	+9,7

Обратное превращение лимонной кислоты в яблочную, по данным С. М. Прокошева и Е. И. Петроченко, наблюдается при определенных условиях в клубнях картофеля.

Если исходить из предположения о том, что реакции цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот играют важную роль в образовании и превращении органических кислот у высших растений, то нужно также принять, что пировиноградная кислота, образующаяся на первых стадиях диссимиляции гексоз, должна служить исходным соединением для синтеза органических кислот. Специальные опыты, поставленные с целью проверки этого предположения, показали, что, действительно, инфильтрация солей пировиноградной кислоты в листья суккулентов усиливает биосинтез ограничеких кислот.

Уксусная кислота, образующаяся в результате окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты и играющая важную роль в синтезе лимонной кислоты, чрезвычайно легко усваивается высшими растениями. Это показано с помощью опытов, в которых ацетат, содержавший в карбоксильной группе изотопный углерод, поглощался в темноте срезанными листьями табака. Оказалось, что ацетат используется на синтез самых различных соединений, входящих в состав листа. Факт выделения листьями углекислого газа, содержавшего меченый углерод, указывает на то, что ацетат вовлекается в цепь реакций, лежащих в основе дыхания.

На реальность существования в высших растениях превращений и реакций цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот указывают опыты, в которых ткани растений обогащались теми или иными органическими кислотами. Такие опыты были поставлены Д. М. Михлиным и А. Н. Бахом, а также М. П. Пятницким. Д. М. Михлин и А. Н. Бах путем ваккум-инфильтрации вводили в листья махорки различные органические кислоты и их смеси. Оказалось, что наиболее интенсивное образование лимонной кислоты в листьях происходило при инфильтрации смеси щавелевоуксусной и пировиноградной кислот. Подобный результат может быть легко объяснен, если в соответствии с циклом трикарбоновых и дикарбоновых кислот принять, что лимонная кислота образуется путем конденсации щавелевоуксусной и пировиноградной (или уксусной) кислот.

В опытах Д. М. Михлина и А. Н. Баха значительное увеличение образования лимонной кислоты наблюдалось также при инфильтрации в листья янтарной кислоты, являющейся важным звеном в цикле трикарбоновых кислот.

Весьма показательные данные были получены М. П. Пятницким, работавшим с листьями табака *(Nicotiana tabacum)* и махорки *(Nicotiana rustica)*. Он показал, что при засасывании через черешки в находящиеся в темноте листья калиевых солей яблочной, фумаровой, янтарной и винной кислот первые три сильно увеличивали образование лимонной кислоты, в то время как винная кислота подобного влияния не оказывала. Результаты опытов Пятницкого приведены в табл. 22.

Точно так же Г. Виккери было показано, что при культивировании листьев табака в темноте на растворах изолимонной кислоты, меченной радиоактивным углеродом, около 40% ее превращается в лимонную кислоту.

Таким образом, данные, полученные в опытах Г. Виккери, Д. М. Михлина, А. Н. Баха и М. П. Пятницкого, весьма наглядно свидетельствуют о легкости взаимных превращений в растительном организме органических кислот, а также о том, что они образуются в высших растениях благодаря реакциям цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот.

Весьма важные факты, свидетельствующие о том, что в образовании органических кислот в растениях первостепенную роль иг-

Таблица 22

Образование лимонной кислоты в листьях табака и махорки при засасывании в них растворов различных веществ
(в процентах к ее содержанию в свежесорванных листьях)

Обработка	Процентное содержание лимонной кислоты	
	в табаке	в махорке
Свежесорванные листья	100	100
Вода (контроль)	212	224
Хлористый калий	240	245
Виннокислый калий	138	195
Яблочнокислый калий	487	318
Фумаровокислый калий	374	395
Янтарнокислый калий	445	363

рают ферментативные реакции цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот, были получены также при изучении влияния углекислого газа на интенсивность накопления органических кислот в растениях. Как уже мы указывали выше, углекислый газ может использоваться на синтез органических кислот, вследствие чего повышение содержания в воздухе углекислого газа весьма способствует накоплению органических кислот в листьях.

Объяснение этому факту мы находим в том, что высшие растения так же, как и микроорганизмы, способны к гетеротрофной фиксации углекислоты. Доказательством этого является нахождение в высших растениях ферментативных систем, катализирующих присоединение CO_2 к различным кетокислотам. Например, в пшеничных зародышах, свекле, шпинате, моркови, корне петрушки и сельдерея, в горохе найден фермент, катализирующий реакцию образования щавелевоуксусной кислоты из пировиноградной кислоты и углекислого газа по уравнению:

$$\text{щавелевоуксусная кислота} \rightleftarrows \text{пировиноградная кислота} + CO_2$$

В пшеничных зародышах, в листьях *Kalanchoe crenata* и различных видов *Sedum* найден фермент, получивший название малатдегидрогеназы (декарбоксилирующей) (раньше называлась маликэнзим) и катализирующий реакцию:

$$CH_3\cdot CO\cdot COOH + CO_2 + \text{НАДФ}\cdot H_2 \xrightleftharpoons{Mn^{2+}}$$
$$\rightleftarrows COOH\cdot CH_2\cdot CHOH\cdot COOH + \text{НАДФ}$$

Вместе с тем в ряде растений, в том числе в *Kalanchoe crenata*, найден фермент фосфопируваткарбоксилаза, который катализирует

реакцию карбоксилирования фосфопировиноградной кислоты с образованием щавелевоуксусной кислоты:

$$HOOC\cdot CO\,PO(OH)_2{=}CH_2+H_2O+CO_2 \rightleftarrows$$
$$\rightleftarrows HOOC\cdot CO\cdot CH_2COOH+H_3PO_4.$$

Наконец, из корня петрушки выделен ферментный препарат, который катализирует образование изолимонной кислоты из α-кетоглютаровой кислоты и CO_2. Эта обратимая реакция идет при участии НАДФ·H_2:

$$\underset{\text{кислота}}{\alpha\text{-кетоглютаровая}}+CO_2+\text{НАДФ}\cdot H_2 \rightleftarrows \underset{\text{кислота}}{\text{изолимонная}}+\text{НАДФ}$$

Каково реальное значение каждой из этих реакций в обмене веществ того или иного растения — это пока трудно сказать. Однако у суккулентов, у которых углекислый газ используется на карбоксилирование кетокислот и синтез яблочной кислоты, по-видимому, особенно важную роль играет вышеуказанная реакция карбоксилирования фосфоенолпировиноградной кислоты. Это ясно из рис. 76, на котором показано влияние концентрации углекислого газа на относительную скорость накопления в темноте яблочной кислоты в листьях суккулентов, карбоксилирование фосфопирувата и образование яблочной кислоты под действием малатдегидрогеназы (см. стр. 448). Таким образом, из рис. 76 очевидно, что ход кривой, характеризующей влияние концентрации CO_2 на накопление яблочной кислоты в листьях, сходен с ходом кривой реакции карбоксилирования фосфоенолпирувата, в результате которой образуется щавелевоуксусная кислота, а из нее путем восстановления — яблочная кислота.

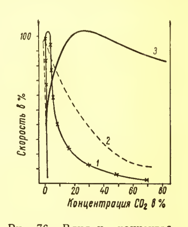


Рис. 76. Влияние концентрации CO_2 на скорость накопления яблочной кислоты в листьях суккулента в темноте (*1*), скорость карбоксилирования фосфопирувата (*2*) и скорость накопления яблочной кислоты под действием малатдегидрогеназы

Что касается щавелевой кислоты, накапливающейся в некоторых растениях в очень больших количествах, то пути ее образования недостаточно исследованы. Наиболее вероятен путь, исходящий из уксусной кислоты и заключающийся, так же как и у плесневых грибов (см. выше стр. 439), в последовательном окислении уксусной кислоты в гликолевую, последней — в глиоксилевую и глиоксилевой — в щавелевую. Как известно, гликолевая и глиоксилевая кислоты содержатся в различных растениях.

Вместе с тем в листьях ряда растений открыты ферменты, окисляющие α-оксикислоты — молочную и гликолевую, а также глиоксилевую кислоту. При этом из глиоксилевой кислоты образуется щавелевая кислота.

Поскольку уксусная кислота, по-видимому, возникает в результате окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты, являющейся исходным соединением, необходимым для развертывания реакций цикла трикарбоновых кислот, очевидно, что образование щавелевой кислоты теснейшим образом связано с этим циклом превращений. В связи с этим высказываются предположения о том, что щавелевая кислота может образовываться также и из других соединений, участвующих в реакциях цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот. Такими соединениями могут быть щавелевоуксусная кислота, которая может распадаться на уксусную и и щавелевую кислоты (см. стр. 440), и щавелевоянтарная кислота. Эта последняя может, по-видимому, не только подвергаться декарбоксилированию с образованием α-кетоглютаровой кислоты и CO_2, но и также распадаться гидролитическим путем на янтарную и щавелевую кислоты:

$$
\begin{array}{c}
COOH \\
| \\
CO \\
| \\
H-C-COOH \\
| \\
CH_2 \\
| \\
COOH
\end{array}
\xrightarrow{+H_2O}
\begin{array}{c}
COOH \\
| \\
COOH
\end{array}
+
\begin{array}{l}
CH_2-COOH \\
| \\
CH_2-COOH
\end{array}
$$

Нужно, однако, отметить, что все эти возможные пути образования щавелевой кислоты в растениях совершенно недостаточно обоснованы экспериментально.

Часто высказывается мнение, что щавелевая кислота, несмотря на то, что она накапливается в растениях в очень больших количествах, не участвует далее в обмене веществ и представляет собой отброс. Однако подобному представлению противоречит ряд фактов. Так, например, известно, что у ревеня (*Rheum hybridum*) весной происходит перетекание щавелевой кислоты из корневища в листья; позже начинается обратный ее отток из листьев в корневища. У многих растений можно также наблюдать растворение кристаллов щавелевокислых солей в листьях, стеблях, семенах и корнях на определенных этапах развития растений. Наконец, на то, что щавелевая кислота может подвергаться дальнейшим превращениям в обмене веществ, указывает также факт нахождения в ряде растений фермента, катализирующего окисление щавелевой кислоты кислородом воздуха. Этот фермент был открыт в 1911 г. В. К. Залесским в пшеничной муке и назван им оксалазой. Впоследствии было показано его присутствие во многих растениях; особенно активным он оказался в тканях некоторых мхов и растений, содержащих значительные количества щавелевой кислоты — ревеня, шпината и др. Оксалаза, которая в настоящее время называется оксалатоксидазой, катализирует реакцию $H_2C_2O_4 + O_2 = H_2O_2 + 2CO_2$; образующаяся при этом перекись водорода немедленно разлагается каталазой.

Щавелевая кислота может подвергаться в высших растениях также декарбоксилированию под действием соответствующей ферментной системы, найденной, например, в листьях подсолнечника и сахарной свеклы, в проростках гороха. В результате образуется углекислый газ и муравьиная кислота. Действие этой ферментной системы осуществляется при участии АТФ, коэнзима А и ионов магния и происходит в соответствии со следующими уравнениями:

$$\text{оксалат} + \text{кофермент А} \xrightarrow{Mg^{2+};\ \text{АТФ}} \text{оксалил-кофермент А}$$
$$\text{оксалил — кофермент А} \longrightarrow CO_2 + \text{формил-кофермент А}$$
$$\text{формил-кофермент А} \longrightarrow \text{муравьиная кислота} + \text{кофермент А}$$

Образующаяся в результате декарбоксилирования щавелевой кислоты муравьиная кислота в свою очередь окисляется формиатдегидрогеназой, которая содержится во многих растениях и особенно активна в семенах фасоли. Факт нахождения в растениях фермента, вызывающего окислительный распад муравьиной кислоты, указывает на то, что муравьиную кислоту так же, как и щавелевую, нельзя рассматривать как «отброс» обмена веществ.

Мы указывали уже ранее (стр. 179), что во многих растениях содержится малоновая кислота. Она является ингибитором дегидрогеназы янтарной кислоты, действующим по принципу конкурентного торможения. Поэтому долгое время непонятен был механизм участия малоновой кислоты в обмене веществ у растений. Однако в настоящее время показано, что при введении в растения малоната, меченного радиоактивным углеродом, этот последний обнаруживается в кислотах, участвующих в цикле ди- и трикарбоновых кислот. Таким образом, малонат усваивается и перерабатывается растениями. При этом малонат при участии кофермента А превращается в ацетат согласно схеме:

$$\text{малонат} \xrightarrow{\text{АТФ; КоА}} \text{малонил-КоА} \xrightarrow{Mg^{2+}} \text{ацетил-КоА} + CO_2.$$

Образовавшийся таким путем ацетилкофермент А далее включается в цикл дикарбоновых и трикарбоновых кислот.

Вместе с тем малонил КоА играет важнейшую роль в качестве промежуточного продукта при синтезе жирных кислот (см. стр. 458).

Совершенно неясным является происхождение в растениях винной кислоты, накапливающейся в некоторых плодах в очень больших количествах. Вопрос о путях ее образования представляет значительный интерес для экспериментальных исследований.

Органические кислоты содержатся в значительных количествах и играют чрезвычайно важную роль в обмене веществ у созревающих плодов. Общеизвестно, что по мере созревания кислотность плодов понижается. Это связано, как правило, с уменьшением содержания органических кислот. Весьма наглядные данные, характеризующие это положение, были получены В. М. Лоза и В. В. Елецким, которые исследовали изменения в содержании органических кислот при созревании винограда. Содержание кислот в сусле изменялось следующим образом:

Время сбора	*Общее содержание винной кислоты*	*Свободная винная кислота*	*Яблочная кислота*
25 июля	15,53	0,20	—
8 августа	17,07	0,50	13,80
22 »	13,77	0,60	13,48
29 »	10,47	0,50	9,28
12 сентября	8,77	0,30	4,63
19 »	8,77	0,15	2,40

При созревании яблок и слив получены аналогичные данные. Однако нужно отметить, что не всегда изменение количества органических кислот в созревающих плодах сводится к постепенному снижению их содержания. Так, например, в созревающих ананасах содержание кислот возрастает по мере созревания, причем это возрастание идет параллельно с возрастанием количества сахаров. По данным А. Л. Курсанова, так же изменяется содержание кислот в созревающих плодах японской мушмулы. Необходимо подчеркнуть, что происходящие при созревании плодов изменения в содержании органических кислот теснейшим образом связаны с изменениями дыхательного газообмена. Так, например, на ранних фазах созревания яблок дыхательные коэффициенты значительно выше единицы и понижаются по мере созревания и уменьшения содержания в плодах яблочной кислоты; одновременно возрастает содержание сахара и резко уменьшается содержание крахмала.

ЛИТЕРАТУРА

Буткевич В. С. Растительные кислоты как продукт превращения углеводов грибами. «Микробиология», т. 8, стр. 286, 1939.

Владимиров А. В. Изменение биохимических процессов в листьях махорки в зависимости от условий аммиачного и нитратного питания растений. «Докл. АН СССР», т. 23, стр. 698, 1939.

Гребинский С. О. Условия образования и накопления органических кислот у махорки. «Тр. Ботан. ин-та АН СССР», сер. 4, вып. 1, стр. 207, 1940.

Дурмишидзе С. В. Генезис молочной кислоты при естественном алкогольном брожении. «Биохимия», т. 3, вып. 3, стр. 308, 1938.

Залесский В. и Кухаркова А. К вопросу о химизме ферментативного окисления щавелевой кислоты высшим растением. «Укр. хим. ж.», т. 13, стр. 139, 1928.

Костычев С. П. Получение лимонной кислоты биохимическим путем Тр. Центр. научно-исслед. биохим, ин-та пищ. и вкус. пром. Наркомснаба СССР, т. 11, вып. 3 (11), стр. 70, 1932.

Михлин Д. М. и Бах А. Н. Биохимический синтез лимонной кислоты. «Изв. АН СССР». Сер. биол., стр. 991, 1938.

Прокошев С. М. и Петроченко Е. И. Содержание и превращение лимонной и яблочной кислот в клубнях картофеля. «Докл. АН СССР», т. 74, стр. 983, 1950.

Прокошев С. М., Баранова В. З. и Медников А. И. Органические кислоты в листьях хлопчатника. «Докл. АН СССР», т. 102, № 5, стр. 985, 1955.

Пятиицкий М. П. Влияиие солей иекоторых оргаиических кислот иа процесс иакоплеиия лимоииой кислоты в листьях табачиого растеиия. «Докл. АН СССР», т. 29, № 1, стр. 56, 1940.
Родопуло А. К. Окислительио-восстановительиые превращеиия оргаиических кислот в процессе созреваиия винограда. «Биохимия виноделия», сборник 6, стр. 132, 1960.
Солдатеиков С. В. Оргаиические кислоты высших растеиий и превращеиия их в обмеие веществ. «Труды Петергофского биологического иистиута ЛГУ», № 19, стр. 35, 1962.
Солдатеиков С. В. и Иваиова Т. П. Действие света иа превращеиие оргаиических кислот у суккулеитиых растеиий. «Уч. зап. ЛГУ», сер. биол. наук, вып. 39, стр. 19, 1955.
Солдатеиков С. В. и Мазурова Т. А. Малоиовая кислота в бобовых растеииях. «Биохимия», т. 22, вып. 1—2, стр. 345, 1957.
Федоров М. В. Жизиь и иаучиая деятельиость проф. В. С. Буткевича. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 5, стр. 501, 1945.
Фостер Д. Химическая деятельиость грибов. ИЛ, М., 1950.
Шмук А. А., Медииков А. И. и Малов М. К. Производство иикотииа и лимоиной кислоты из махорочиого сырья. Пищепромиздат, М., 1948.
Bennet-Clark T. A. Organic Acids in Plants. «Annual Rev. Biochem.», 18, 639, 1949.
Burris R. A. Organic Acids in Plant Metabolism. «Annual Rev. Plant Physiol.», 4, 91, 1953.
Giovanelli J. a. Tobin N. F. Adenosinetriphosphate and Coenzyme A-Dependent Decarboxylation of Oxalate by Extracts of Peas. «Nature», 190, 1006, 1961.
Hatch M. D. and Stumpf P. K. Metabolism of Malonic Acid and its α-Substituted Derivatives in Plants. «Plant Physiol.», 37, 121, 1962.
Millerd A., Morton R. K. and Wells I. R. E. Oxalic Acid Synthesis in Shoots of *Oxalis pes-carpae* (L.). «Biochem. J.», 86, 57, 1963.
Ranson S. L. a. Thomas M. Crassulacean Acid Metabolism. «Annual Rev. Plant Physiol.», 11, 81, 1960.
Srivastava S. K. a. Krishnan P. S. Oxalic Acid Oxidase in the Leaves of *Bougainvillea spectabilis*. «Biochem. J.», 85, 33, 1962.
Thomas M. Carbon Dioxide Fixation and Acid Synthesis in Crassulaceae Acid Metabolism; «Carbon Dioxide Fixation and Photosynthesis», Symposium of the Society for Experimental Biology, 5, 1951.
Walker D. A. Pyruvate Carboxylation and Plant Metabolism. «Biol. Revs Cambridge Philos. Soc.», 37, 215, 1962.
Yamamoto J. a. Beevers H. Malate Synthetase in Higher Plants. «Plant Physiol.», 35, 102, 1960.

Глава XII

ОБМЕН ЖИРОВ И ЛИПОИДОВ

Общеизвестно, что в животном организме жиры чрезвычайно легко образуются из углеводов. То же самое имеет место у микроорганизмов и высших растений. Установлено, что очень многие микроорганизмы — дрожжи, плесневые грибы, бактерии — могут синтезировать значительные количества жира из углеводов. Некоторые из них накапливают до 60% жира на сухое вещество. При этом необходимо отметить, что процесс образования жира из углеводов может идти с чрезвычайно большой скоростью. Так, например, дрожжеподобный организм *Torulopsis lipofera* при культивировании его на глюкозе за пять часов образует до 11% жира на сухое вещество.

Образование жира из сахара у микроорганизмов происходит только лишь при достаточном доступе кислорода и сопровождается затратой значительного количества энергии, необходимой для происходящих при этом синтетических реакций. Так, например, суммарное уравнение синтеза стеариновой кислоты из глюкозы может быть написано следующим образом:

$$\underset{\text{глюкоза}}{5\,C_6H_{12}O_6} + 4\,O_2 \rightarrow \underset{\text{стеариновая кислота}}{C_{18}H_{36}O_2} + 12\,CO_2 + 12\,H_2O.$$

При этом процессе потребляется 945,7 *ккал* на 5 грамм-молекул потребленной глюкозы. Как видно из этого уравнения, дыхательный коэффициент CO_2/O_2 должен быть равен в этом случае 3,0. Действительно, процесс образования жира из сахара у дрожжей или, например, у *Torulopsis lipofera*, сопровождается дыхательными коэффициентами, значительно превышающими единицу.

Для образования жира у микроорганизмов необходимо также наличие в питательной среде фосфатов. Это установлено в отношении дрожжей и особенно четко показано для *Torulopsis lipofera*.

По-видимому, фосфорная кислота необходима главным образом для диссимиляции углеводов и образования из них тех промежуточных продуктов, которые затем используются на синтез жира.

Чрезвычайно энергичное образование жиров за счет углеводов происходит в созревающих семенах и плодах, накапливающих

значительное количество жиров. Это ясно видно на рис. 77, составленном по данным Л. П. Ждановой и Г. В. Ивановой.

Так же, как и у микроорганизмов, процесс образования жира из углеводов в созревающих семенах и плодах растений происходит только лишь при достаточном доступе кислорода, так как часть потребляемого сахара окисляется полностью до углекислого газа и воды, а образующаяся при этом энергия используется на процесс синтеза жира. Вместе с тем образующиеся из сахара жирные кислоты содержат значительно меньше кислорода (около 11 — 12%), чем исходный сахар, например глюкоза (около 50% кислорода). Поэтому кислород, необходимый для осуществления синтеза жирных кислот, частично берется из самого сахара, и потребление атмосферного кислорода снижается. В результате дыхательные коэффициенты у созревающих масличных семян, так же как и у микроорганизмов, образующих жир из сахара, значительно превышают 1. Так, например, дыхательные коэффициенты у созревающих семян клещевины достигают 4,71.

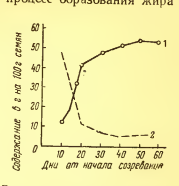
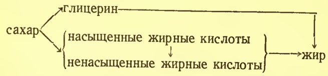


Рис. 77. Изменение содержания углеводов и жира в созревающих семенах подсолнечника:

1 — жир, 2 — углеводы

Главные этапы синтеза жира в растительном организме могут быть представлены схемой:



Из этой схемы очевидно, что составные части жира — глицерин и жирные кислоты — образуются из сахаров. Главным источником образования компонентов жира являются гексозы, в первую очередь глюкоза и фруктоза. Однако нужно отметить, что некоторые микроорганизмы, как например, *Oidium lactis* или различные виды *Fusarium*, очень энергично образуют жир из пентоз. В созревающих плодах маслины образование жира происходит за счет маннита. Установлено также, что микроорганизмы — пекарские дрожжи, *Torulopsis lipofera*, *Endomyces vernalis* — чрезвычайно легко образуют жир из этилового спирта, пировиноградной кислоты, ацетальдегида и уксусной кислоты. Таким образом, исходным веществом, используемым на синтез жира в растительном организме, могут быть не только гексозы, но также пентозы и продукты глубокой диссимиляции углеводов, содержащие 2 или 3 углеродных атома

в молекуле. Особое значение в этом смысле приобретает уксусная кислота, чрезвычайно легко используемая на синтез жиров. Превращение уксусной кислоты в жирные кислоты определенно установлено в настоящее время для животного организма, бактерий, дрожжей и высших растений с помощью метода меченых атомов.

Глицерин, необходимый для синтеза жиров, образуется в процессе анаэробной диссимиляции углеводов путем восстановления глицеринового альдегида, получающегося из фруктозодифосфата под действием фермента альдолазы (см. стр. 301).

Из глицерина и жирных кислот, благодаря синтезирующему действию липазы, образуется жир. Естественно поэтому, что по мере связывания жирных кислот с глицерином и синтеза глицеридов происходит неуклонное снижение количества содержащихся в жире свободных жирных кислот. Вследствие этого кислотное число жира в созревающих семенах неуклонно снижается. Синтезирующее действие липазы было многократно показано; особенно хорошо исследован ферментативный синтез глицеридов под действием липазы из семян клещевины.

Изменение состава жира, происходящее при созревании семян, снижение кислотного числа и возрастание йодного числа хорошо иллюстрируются данными, приведенными в табл. 23.

Таблица 23

Изменение состава жира при созревании семян льна
(по С. Л. Иванову)

Дата взятия пробы	Содержание жира в %	Кислотное число	Йодное число
5 июля	2,3	15,4	120,6
18 июля	11,0	3,6	151,0
3 августа	32,5	4,0	168,0
25 августа	35,0	5,6	175,0

Процессу синтеза жирных кислот из сахара предшествует распад этого последнего на соединения, содержащие в молекуле 2 или 3 углеродных атома. В пользу подобной точки зрения, выдвинутой М. Ненцким, говорят прежде всего факты чрезвычайно энергичного синтеза жира микроорганизмами из таких продуктов диссимиляции сахаров, какими являются ацетальдегид, уксусная кислота, этиловый спирт и пировиноградная кислота. О подобном пути предварительного расщепления сахара на более простые соединения говорит также легкость образования жирных кислот и жира из пентоз. Наконец, в пользу этого представления свидетельствует накопление фосфорилированных промежуточных продуктов диссимиляции сахара при частичном подавлении синтеза жира у дрожжей и дрожжеподобных организмов.

Исследования, произведенные с микроорганизмами, растениями и животными для выяснения химизма синтеза жирных кислот из продуктов расщепления сахаров, показали, что исходным материалом для этого синтеза является уксусная кислота. Так, например, с помощью метода меченых атомов было показано, что у бактерии *Clostridium acetobutylicum* масляная кислота образуется путем конденсации двух молекул уксусной кислоты в ацетоуксусную кислоту и последующего восстановления этой последней до масляной кислоты:

$$\underset{\text{уксусная кислота}}{2CH_3COOH} \rightarrow \underset{\text{ацетоуксусная кислота}}{CH_3COCH_2COOH} \xrightarrow{\text{восстановление}} \underset{\text{масляная кислота}}{CH_3CH_2CH_2COOH}.$$

С помощью бесклеточного ферментного препарата, полученного из бактерии *Clostridium acetobutylicum*, удалось синтезировать из уксусной кислоты не только масляную, но и содержащую 6 атомов углерода капроновую кислоту.

Уксусная кислота используется микроорганизмами на синтез жирных кислот лишь в том случае, если одновременно с ней присутствует какой-либо источник богатых энергией (макроэргических) связей, например аденозинтрифосфорная кислота.

Ведущая роль уксусной кислоты в процессе синтеза жирных кислот, входящих в состав жиров, вытекает также из того факта, что все встречающиеся в природе жирные кислоты содержат четное число атомов углерода.

Исходным соединением для биосинтеза жирных кислот является не сама уксусная кислота, а ацетил-кофермент А (см. стр. 414), являющийся источником активных ацетильных радикалов. На это ясно указали опыты, проведенные с дрожжами. Путем культивирования дрожжей на средах, содержавших и не содержавших пантотеновую кислоту, были получены расы дрожжей, богатые и бедные коферментом А. При последующем их культивировании на питательной среде, в которой источником углерода являлись соли уксусной кислоты, оказалось, что раса, богатая коферментом А, накапливала значительные количества жира и стеролов. Наоборот, раса, бедная коферментом А, образовывала очень мало жира и стеролов.

С другой стороны, с помощью очищенного ферментного препарата, выделенного из листьев шпината, доказано образование ацетоуксусной кислоты из ацетил-кофермента А. Эта реакция идет по схеме:

$$\underset{\text{ацетил-кофермент А}}{2CH_3CO \sim SKoA} \rightleftarrows \underset{\text{ацетоацетил-кофермент А}}{CH_3COCH_2CO \sim SKoA} + \underset{\text{кофермент А}}{HSKoA}$$

$$\underset{\text{ацетоацетил-кофермент А}}{CH_3COCH_2CO \sim SKoA} + H_2O \rightarrow \underset{\text{ацетоуксусная кислота}}{CH_3COCH_2COOH} + \underset{\text{кофермент А}}{HSKoA}$$

Образовавшаяся ацетоуксусная кислота, восстанавливаясь, дает масляную кислоту. Эта последняя, снова вступая в реакцию с аце-

тилкоферментом А, образует капроновую кислоту. Необходимо подчеркнуть, что механизм биосинтеза высших жирных кислот у растений сравнительно мало исследован. В то же время семена масличных культур, в которых во время созревания происходит чрезвычайно интенсивный синтез жиров, являются прекрасным объектом для проведения соответствующих экспериментальных исследований и выяснения химизма превращения сахара в жиры, происходящего в растении с такой легкостью. Исследования, проведенные в этом направлении с помощью метода меченых атомов, также показали, что образование высших жирных кислот идет особенно легко из ацетата. Так, например, установлено, что в прорастающих и созревающих семядолях арахиса синтез жирных кислот сопровождается включением в эти последние уксусной кислоты, меченной радиоактивным углеродом C^{14}. Включение меченого ацетата в высокомолекулярные жирные кислоты показано также на примере созревающих семян льна, на хлоропластах подсолнечника и форменных элементах из плодов авокадо.

Как мы уже отмечали, исходным материалом для синтеза жирных кислот является активный ацетил в виде ацетил-кофермента А. Для осуществления синтеза необходимы Mn^{2+} и НАДФ$\cdot H_2$; кроме того, в процессе синтеза жирных кислот участвует также CO_2, который вступает в реакцию с ацетил-коферментом А, образуя малонил-кофермент А, являющийся важнейшим промежуточным продуктом при ферментативном синтезе жирных кислот. В процессе присоединения CO_2 к ацетил-коферменту А важную каталитическую роль играет биотин, а источником энергии для этого процесса является АТФ. Схематически процесс биосинтеза жирных кислот мы можем представить следующим образом:

$$\underset{\text{уксусная кислота}}{CH_3COOH} + \underset{\text{кофермент А}}{\text{КоА}} \longrightarrow \underset{\text{ацетил-кофермент А}}{CH_3CO\text{—КоА}}$$

$$\underset{\text{ацетил-кофермент А}}{CH_3CO \cdot S\text{—КоА}} + CO_2 \xrightarrow[\text{АТФ}]{\text{биотин}} \underset{\text{малонил-кофермент А}}{HOOC \cdot CH_2 \cdot CO \cdot S\text{—КоА}}$$

$$\underset{\text{ацетил-кофермент А}}{R \cdot CO \cdot S\text{—КоА}} + \underset{\text{малонил-кофермент А}}{HOO\overset{*}{C} \cdot CH_2 \cdot CO \cdot S\text{—КоА}} \rightleftarrows \overset{*}{C}O_2 + R\underset{\underset{O}{\|}}{C} \cdot CH_2 \cdot CO \cdot S\text{—КоА} + \text{КоASH}$$

Последующее восстановление группы $R \cdot \underset{\underset{O}{\|}}{C}$ — при участии НАДФ$\cdot H_2$ приводит к образованию новой жирной кислоты, содержащей на 2 углеродных атома более, чем исходная.

Таким образом из приведенной схемы очевидно, что фактическим источником двууглеродного фрагмента, последовательно присоединяющегося при синтезе жирных кислот, является малонил-кофермент А.

Что касается биотина, то он входит в состав активной группы ферментов, которые в процессе синтеза жирных кислот катализируют реакцию присоединения CO_2.

В соответствии с описанными выше реакциями суммарное уравнение синтеза пальмитиновой кислоты имеет следующий вид:

$$\text{ацетил-КоА} + 7\text{малонил-КоА} + 14\text{НАДФ} \cdot H_2 + 14H^+ \longrightarrow \text{пальмитил-КоА} + 14\text{НАДФ} + 7CO_2 + 7\text{КоА} + 7H_2O.$$

Справедливость приведенной схемы биосинтеза высших жирных кислот показана с помощью бесклеточных ферментных препаратов, выделенных из пекарских дрожжей, зародышей пшеницы и митохондриев из плодов авокадо.

Не совсем ясен вопрос относительно путей биосинтеза ненасыщенных жирных кислот. Имеющиеся экспериментальные данные показывают, что у пекарских дрожжей высшие насыщенные жирные кислоты превращаются в ненасыщенные в результате реакций, в которых участвуют НАДФ и кислород. Точно так же бесклеточные ферментные препараты из плодов авокадо синтезируют олеиновую кислоту только в присутствии кислорода, в то время как синтез пальмитиновой и стеариновой кислот усиливается в анаэробных условиях. Эти данные свидетельствуют о том, что, по-видимому, высшие ненасыщенные жирные кислоты действительно образуются из насыщенных кислот, тем более, что в растениях найден фермент, дегидрирующий стеариновую и пальмитиновую кислоты (см. стр. 461). Однако возможно, что биосинтез насыщенных и ненасыщенных жирных кислот идет сначала по одному пути, а затем они расходятся. Этот вопрос так же как и вопрос о путях биосинтеза рицинолевой кислоты, жирных кислот с разветвленной углеродной цепочкой и жирных кислот типа хаульмугровой кислоты, неясен и требует дальнейшей экспериментальной разработки.

Процесс расщепления жира в растительном организме происходит особенно энергично при прорастании масличных семян. Он начинается с гидролитического распада жиров, происходящего под действием липазы и сопровождающегося накоплением глицерина и свободных жирных кислот. Образующиеся глицерин и жирные кислоты чрезвычайно быстро используются для различных синтезов, происходящих в развивающемся ростке. При этом главным продуктом, возникающим в результате превращения жиров, является сахар. Мы уже приводили ранее данные А. И. Ермакова и Н. Н. Иванова, показывающие, как за счет жира в прорастающих масличных семенах накапливаются сахара́. Аналогичные данные получены целым рядом исследователей. При этом необходимо отметить, что образуются не только гексозы, но также и пентозы. Этот факт указывает на то, что пентозы принимают активное участие в обмене веществ у растений. Вместе с тем он указывает также на то, что во время прорастания семени жир расщепляется до низ-

комолекулярных соединений, содержащих 2 или 3 углеродных атома в молекуле. Путем конденсации этих низкомолекулярных соединений образуются затем различные моносахариды и другие вещества.

При рассмотрении сущности процесса дыхания мы уже указывали, что дыхательные коэффициенты прорастающих масличных семян весьма низки и могут достигать величин, близких к 0,3 (см. стр. 392). Это объясняется тем, что при прорастании семян весьма бедные кислородом жирные кислоты превращаются в богатые им сахара́. Вследствие этого кислород потребляется не только для осуществления самого процесса дыхания прорастающих семян, но также для предварительного превращения жира в сахар. Если при созревании масличных семян в первую очередь образуются насыщенные кислоты и они служат материалом для дальнейшего образования ненасыщенных жирных кислот, то прорастание масличных семян сопровождается обычно понижением йодного числа, свидетельствующим о преимущественном потреблении и превращении ненасыщенных кислот. Накопление свободных жирных кислот, происходящее при прорастании семян и являющееся следствием гидролиза жира под действием липазы, а также наблюдающееся понижение йодного числа, свидетельствующее о быстром исчезновении ненасыщенных жирных кислот, иллюстрируется данными, приведенными в табл. 24.

Недостаточно ясным является вопрос о том, чем объясняется понижение йодного числа при прорастании — преимущественным потреблением ненасыщенных жирных кислот или же их превращением в насыщенные кислоты. Имеется целый ряд данных, указывающих на то, что потребляются в первую очередь ненасыщенные кислоты. Так, например, при исследовании прорастания земляного ореха (арахиса), жир которого содержит 13—24% насыщенных кислот, а также клещевины, у которой масло почти не содержит насыщенных кислот (всего лишь 3%) и чрезвычайно богато ненасыщенными кислотами, было установлено, что наблюдается глубокое

Таблица 24

Изменение содержания и свойств жира при прорастании семян льна (по С. Л. Иванову)

Объект	Жир в %	Кислотное число	Йодное число
Исходные семена	37,64	1,95	187,63
Проростки на 4-й день	31,02	6,85	—
» » 8-й »	27,21	16,95	176,7
» » 12-й »	20,13	48,03	163,3

различие между этими растениями в накоплении сахара — в проростках арахиса практически не происходило накопления сахара,

в то время как в проростках клещевины его содержание резко возрастало.

Эти факты указывают на то, что из ненасыщенных жирных кислот сахара образуются быстрее.

С другой стороны, имеются данные, полученные при изучении прорастающих семян подсолнечника и свидетельствующие о том, что ненасыщенные жирные кислоты легко превращаются в насыщенные. В связи с этим представляет значительный интерес факт нахождения в прорастающих семенах тыквы фермента, катализирующего превращение ненасыщенных жирных кислот в насыщенные. Этот фермент, который был назван *сатуразой*, катализирует гидрирование олеиновой кислоты, а также масла, выделенного из семян тыквы. По-видимому, под действием именно этого фермента во время созревания семян происходит обратный процесс дегидрирования насыщенных жирных кислот и образования из них ненасыщенных кислот. Фермент, катализирующий дегидрирование стеариновой и пальмитиновой кислот, найден в семенах куколя и опийного мака.

По-видимому, весьма существенную роль в превращениях ненасыщеных жирных кислот играет липоксигеназа (липоксидаза), которая катализирует окисление этих кислот кислородом воздуха по месту двойной связи.

Мы уже указывали ранее (см. стр. 319), что роль липоксигеназы в обмене липоидов у растений пока остается недостаточно ясной.

Каким же образом можно представить себе химизм превращения жирных кислот в низкомолекулярные соединения, используемые затем на синтез сахара и других веществ? Необходимо отметить, что это превращение весьма детально изучено у животных. Что касается растительных организмов, то соответствующих экспериментальных данных мало.

Важнейшим этапом диссимиляции жирных кислот является их так называемое β-окисление, открытое Ф. Кноопом. Этот процесс заключается в том, что окисление жирной кислоты происходит у того углеродного атома, который находится в β-положении по отношению к карбоксильной группе:

$$\underset{}{R}-\underset{\delta}{CH_2}-\underset{\gamma}{CH_2}-\underset{\beta}{CH_2}-\underset{\alpha}{CH_2}-COOH$$

В результате происходит разрыв углеродной цепочки жирной кислоты между α- и β-углеродными атомами, причем образуется уксусная кислота и новая высокомолекулярная жирная кислота, содержащая на 2 углеродных атома меньше, чем подвергшаяся окислению первоначальная жирная кислота.

Образовавшаяся путем β-окисления новая жирная кислота снова подвергается дальнейшему окислению по тому же способу. Таким образом, β-окисление жирных кислот заключается в последовательном отсечении двух углеродных атомов, дающих уксусную

кислоту, и образовании новой жирной кислоты, подвергающейся снова β-окислению.

Подвергающаяся β-окислению жирная кислота превращается сначала в соответствующую оксикислоту, а затем в кетокислоту.

Образующиеся в результате β-окисления кетокислоты могут подвергаться в растительном организме ферментативному декарбоксилированию, в результате которого образуются высокомолекулярные кетоны. Этот процесс идет следующим образом:

$$CH_3-(CH_2)_6-\underset{H}{\overset{H}{C}}-\underset{H}{\overset{H}{C}}-COOH \rightarrow CH_3(CH_2)_6-\underset{OH}{\overset{H}{C}}-\underset{H}{\overset{H}{C}}-COOH \rightarrow$$

жирная кислота — оксикислота

$$\rightarrow CH_3-(CH_2)_6-\underset{O}{\overset{\|}{C}}-\underset{H}{\overset{H}{C}}-COOH \rightarrow CH_3-(CH_2)_6-\underset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3+CO_2$$

β-кетокислота — метилгептилкетон

Установлено, что высокомолекулярные метилкетоны образуются подобным образом из жирных кислот под влиянием жизнедеятельности плесневых грибов, в частности столь часто развивающейся на различных пищевых продуктах плесени, какой является *Penicillium glaucum*. Ранее мы уже отмечали, что кетоны, образующиеся из жирных кислот под влиянием плесеней, могут являться причиной неприятного вкуса и запаха прогорклых жиров (см. стр. 128).

Получающаяся в результате β-окисления уксусная кислота подвергается дальнейшим превращениям с образованием в конечном счете углекислого газа и воды. Полное окисление уксусной кислоты до CO_2 и H_2O идет через ряд промежуточных реакций, входящих в цикл трикарбоновых и дикарбоновых кислот. Ферменты, катализирующие β-окисление жирных кислот, сосредоточены в митохондриях. Так, с помощью препарата митохондриев, полученного из прорастающих семян арахиса, в присутствии кофермента А и других кофакторов удалось воспроизвести процесс β-окисления пальмитиновой, масляной и пропионовой кислот.

Процесс β-окисления жирных кислот осуществляется при участии кофермента А и начинается с его присоединения к молекуле жирной кислоты:

$$\underset{\text{жирная кислота}}{R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot COOH}+\underset{\text{кофермент А}}{HS-KoA}$$

$$\uparrow\downarrow$$

$$\underset{\text{ацил-кофермент А}}{R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CO\cdot S-KoA}+H_2O$$

Затем происходит отнятие водорода в α-β-положении, осуществляемое благодаря действию флавинового фермента:

$$R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CO\cdot S\text{—КоА}+\text{флавопротеин}$$
ацил-кофермент А

$$\uparrow\downarrow$$

$$R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2\cdot CH{=}CH\cdot CO\cdot S\text{—КоА}+\text{дегидрофлавопротеин}$$
α-β-ненасыщенный ацил-кофермент А

Далее по месту двойной связи присоединяется молекула воды и образуется β-оксикислота:

$$R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2CH{=}CH\cdot CO\cdot S\text{—КоА}\ \underset{-H_2O}{\overset{+H_2O}{\rightleftarrows}}$$
α-β-ненасыщенный ацил-кофермент А

$$\rightleftarrows R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2\cdot CH(OH)\cdot CH_2\cdot CO\cdot S\text{—КоА}$$
β-оксиацил-кофермент А

Образовавшаяся β-оксикислота в свою очередь подвергается окислению путем отнятия водорода, происходящего при участии НАД и приводящего к образованию β-кетокислоты:

$$R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2\cdot CH(OH)\cdot CH_2\cdot CO\cdot S\text{—КоА}+\text{НАД}$$
β-окси-ацил-кофермент А

$$\uparrow\downarrow$$

$$R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2\cdot CO\cdot CH_2\cdot CO\cdot S\text{—КоА}+\text{НАД}\cdot H_2$$
β-кетоацил-кофермент А

Последним этапом процесса β-окисления жирной кислоты является расщепление образовавшейся β-кетокислоты, которое происходит под действием новой молекулы кофермента А:

$$R\cdot(CH_2)_n\ CH_2\cdot CO\cdot\ \vdots\ CH_2\cdot CO\cdot S\text{—КоА}+\text{КоА—S}\cdot H$$
β-кетоацил-кофермент А

$$\uparrow\downarrow$$

$$R\cdot(CH_2)_n\cdot CH_2CO\cdot S\text{—КоА}+CH_3\cdot CO\cdot S\text{—КоА}$$
ацил-кофермент А ацетил-кофермент

В результате образуется ацетилкофермент А и соединенный с другим остатком коэнзима А радикал новой жирной кислоты, содержащей на 2 углеродных атома меньше, чем молекула подвергшейся β-окислению исходной жирной кислоты. Ацетилкофермент А отдает ацетильный остаток щавелевоуксусной кислоте, в результате чего образуется лимонная кислота. Эта последняя окисляется далее до CO_2 и H_2O путем реакций цикла ди- и трикарбоновых кислот.

Таким образом, процесс β-окисления жирных кислот, так же как и процесс их биосинтеза, идет через образование активного ацетила при участии кофермента А.

Наряду с β-окислением высокомолекулярные жирные кислоты (от лауриновой до стеариновой кислоты) в некоторых растительных тканях могут подвергаться также α-окислению. При этом процесс окисления начинается с декарбоксилирования жирной кислоты, которое происходит под действием особой пероксидазы и перекиси водорода. В результате этого первого этапа процесса образуется соответствующий альдегид, содержащий на один углеродный атом меньше, чем исходная жирная кислота. Этот альдегид далее

подвергается окислению под действием особой альдегид-дегидрогеназы, коферментом которой является НАД. Образуется жирная кислота, содержащая на один углеродный атом меньше, чем исходная. Эта вновь образовавшаяся жирная кислота может снова подвергнуться описанному выше декарбоксилированию с последующим окислением образовавшегося альдегида.

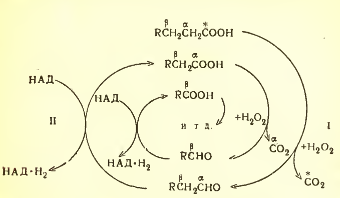


Рис. 78. Схема α-окисления высокомолекулярных жирных кислот. I—действие пероксидазы высокомолекулярных жирных кислот; II — действие альдегиддегидрогеназы

Процесс α-окисления высокомолекулярных жирных кислот может быть изображен в виде схемы, представленной на рис. 78.

Ферментная система, катализирующая процесс α-окисления высокомолекулярных жирных кислот, найдена в семядолях прорастающих семян земляного ореха (*Arachis hypogea*).

Задачей дальнейших исследований является выяснение вопроса, каково реальное значение α-окисления и β-окисления в обмене веществ различных растений.

Уксусная кислота (вернее ацетил), образующаяся при β-окислении жирных кислот, может не только подвергаться полному окислению до CO_2 и H_2O, но также может использоваться на синтез различных соединений, в частности, на синтез углеводов. Именно этот процесс синтеза углеводов из жира происходит, как мы уже отмечали ранее (см. стр. 460), при прорастании богатых жиром семян. При этом уксусная кислота (ацетил), образующаяся в результате β-окисления, включается в реакции цикла глиоксилевой кислоты (см. стр. 418) и дает яблочную кислоту, которая далее превращается в фосфоенолпировиноградную кислоту, а эта последняя — в углеводы. Превращение фосфоенолпировиноградной кислоты в углеводы происходит путем обращения ферментативных реакций, лежащих в основе анаэробной фазы расщепления углеводов при дыхании и брожении (см. стр. 408). Таким образом, превращение

жира в углеводы, происходящее при прорастании богатых жиром семян, может быть представлено в виде следующей схемы:

жир ⟶ остаток жирной кислоты—кофермент А ⟶ ацетилкофермент А ⟶ [цикл глиоксилевой кислоты] ⟶ яблочная кислота ⟶ ⟶ фосфоенолпировиноградная кислота ⟶ [ферментативные реакции анаэробной фазы диссимиляции углеводов] ⟶ сахара.

Наличие ферментативных реакций, лежащих в основе такого превращения, доказано для прорастающих семян клещевины, тыквы, арахиса и подсолнечника.

Весьма мало исследован обмен фосфатидов у растений. Важная роль этих соединений в протоплазме не подлежит никакому сомнению. На это указывает хотя бы тот факт, что значительная часть белков протоплазмы содержится в ней в виде сложных белков — лецитопротеидов. Так, например, у дрожжей содержание фосфатидов достигает 60—80% от общего количества содержащихся в них липоидов.

Превращения фосфатидов, происходящие особенно интенсивно во время прорастания семян, начинаются с гидролиза. Под действием липазы происходит отщепление связанных с глицерином двух молекул жирных кислот. В результате образуются свободные жирные кислоты и освобождается остальная часть молекулы фосфатида. Эта последняя подвергается дальнейшему гидролизу под действием фосфатазы, которая обнаружена С. Л. Ивановым в проростках различных растений. Что касается липазы, катализирующей отщепление жирных кислот от фосфатидов, то она найдена в рисовых отрубях. Холинфосфорная кислота, образующаяся в результате расщепления молекулы лецитина, в свою очередь гидролизуется под действием фосфатазы, найденной в листьях капусты. Продукты гидролитического расщепления фосфатидов — глицерин, жирные кислоты, фосфорная кислота и азотистое основание — вовлекаются далее в различные реакции обмена веществ.

Что касается биосинтеза фосфатидов в растительном организме, то мы пока не располагаем экспериментальными данными по этому вопросу. По аналогии с процессом образования фосфатидов в животном организме можно предполагать, что биосинтез фосфатидов в растении теснейшим образом сопряжен с окислительно-восстановительными процессами, доставляющими энергию, необходимую для образования фосфатидов, и с обменом макроэргических соединений. Действительно, на примере гомогенатов печени показано, что процесс биосинтеза лецитина идет при участии цитидинтрифосфата следующим образом:

Ц—Ⓟ ¦ Ⓟ—Ⓟ + (^{32}P)—холин ⇌ Ц—Ⓟ—(^{32}P)—холин + Ⓟ—Ⓟ

цитидинтрифосфат | фосфорилхолин | цитидиндифосфатхолин | пирофосфат

и далее:

$$\begin{matrix} CH_2-OOCR \\ | \\ CH-OOCR' \\ | \\ CH_2OH \end{matrix} + Ц-(P)-(^{32}P)-холин \rightleftharpoons \begin{matrix} CH_2-OOCR \\ | \\ CH-OOCR' \\ | \\ CH_2-O-(^{32}P)-холин \end{matrix} + Ц-(P)$$

α-β-диглицерид | цитидиндифосфатхолин | лецитин | цитидин — монофосфат

В этой схеме буквой Ц обозначен остаток цитидина, а значком Ⓟ остаток фосфорной кислоты. Значок (^{32}P) означает, что в остатке фосфорной кислоты содержится фосфор P^{32}.

Цитидиндифосфатхолин недавно выделен в кристаллическом виде из дрожжей. Таким образом, весьма возможно, что биосинтез фосфатидов в растениях и у микроорганизмов идет в соответствии с приведенной выше схемой.

Весьма скудны данные об обмене стеролов у растительных организмов. Однако опыты по культивированию плесневых грибов и дрожжей на синтетических средах, в которых единственным источником углеродного питания является сахар, указывают на то, что стеролы так же, как и жиры, образуются из углеводов. Эти опыты показали, что у дрожжей образование эргостерола происходит только лишь в аэробных условиях. Исходным материалом для биосинтеза стеролов является уксусная кислота (вернее радикал ацетила). Так, например, показано, что дрожжи весьма энергично синтезируют стеролы из уксусной кислоты.

Синтез стеролов из ацетата происходит при участии кофермента А, причем промежуточными продуктами, образующимися при биосинтезе стеролов, являются мевалоновая кислота, изопентенилпирофосфат и сквален (см. стр. 141 и 142).

Превращения восков в растительном организме также почти не исследованы. Однако имеющиеся экспериментальные данные по этому вопросу, полученные при изучении содержания восков в прорастающих семенах, а также молодых растениях капусты и конских бобов, указывают на то, что количество восков в листьях возрастает по мере развития растения. Так, например, если в исходных семенах капусты воскá отсутствовали, то содержание их в листьях взрослых растений составляло 0,21% на сырой вес листьев. Чрезвычайно интенсивный синтез восков наблюдается у микроорганизмов, особенно у некоторых бактерий. Эти последние при культивировании их на синтетических средах накапливают до 5—11% восков на сухое вещество. Предполагают, что составные части восков — высокомолекулярные алифатические спирты, кетоны и углеводороды, образуются из соответствующих жирных кислот.

Однако высказываемые по этому вопросу предположения являются чисто гипотетическими и не подтверждены еще какими-либо экспериментальными данными.

ЛИТЕРАТУРА

Бенсон А. А. Обмен липидов в хлоропластах. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум VI «Механизм фотосинтеза», стр. 346. Изд. АН СССР, М., 1962.

Верещагин А. Г. Обмен запасных жиров в растениях. «Успехи соврем. биол.», т. 45, вып. 1, стр. 114, 1958.

Ермаков А. И. Проблема растительных масел. «Биохимия культурных растений», т. 8, стр. 118, 1948.

Иванов С. Л. Химия жиров, глава IV. Образование и превращение жиров в растительных и животных организмах. Снабтехиздат, 1934.

Михлин Д. М. и Пшенова К. В. О механизме действия пероксидирующего фермента (липоксидазы). «Биохимия», т. 13, вып. 1, стр. 76, 1948.

Поитович В. Э. Использование C^{14} в изучении физиологии плодов масличных растений. Сессия Академии наук СССР по мирному использованию атомной энергии 1—5 июля 1955 г. Заседания отделения биологических наук, стр. 254. Изд. АН СССР, М., 1955.

Прокофьев А. А. О жирообразовании у растений. «Успехи соврем. биол.», т. 39, вып. 2, стр. 129, 1955.

Ручкин В. Н. Высыхающая способность льняного масла в процессе созревания семян. «Биохимия», т. 3, вып. 5, стр. 628, 1938.

Свешникова И. Н. и Асикритова М. А. Декстринизация крахмала как начальный этап последующего его превращения в плодах масличных растений. «Докл. АН СССР», т. 134, стр. 1490, 1960.

Селибер Г. Л. и Катанская Г. А. Влияние затрудненного доступа воздуха на образование жира микроорганизмами. «Докл. АН СССР», т. 76, № 5, стр. 727, 1951.

Сисакян Н. М. и Смирнов Б. П. Синтез и окисление жирных кислот в изолированных хлоропластах. «Биохимия», т. 21, вып. 2, стр. 273, 1956.

Фердман Д. Л. Данные о внутриклеточном обмене жиров. «Укр. биохим. ж.», т. 19, стр. 103, 1947.

Штумпф П. Биосинтез липидов у высших растений. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум VII «Биосинтез липидов», стр. 67. Изд. АН СССР, М., 1962.

Beevers H. Metabolic Production of Sucrose from Fat., «Nature», **191**, 433, 1961.

«Handuch der Pflanzenphysiologie». Herausgegeben von W. Ruhland. Band 7, Stoffwechselphysiologie der Fette unf fettähnlicher Stoffe, J. Springer V-g, 1957.

Lynen F., Domagk G. F., Goldmann M. u. Kessel I. Zur Biosynthese der Fettsäuren. I. Nachweis von Malonyl-CoA als Zwischenprodukt der Fettsäuresynthese in Hefeextrakten. «Biochem. Z.», **335**, 519, 1962.

Marcus A. a. Velasco J. Enzymes of Glyoxylate Cycle in Germinating Pea Nuts and Castor Beans. «J. Biol. Chem.», **235**, 563, 1960.

Stumpf P. Lipid Metabolism in Higher Plants. «Nature», **194**, 1158, 1962.

Stumpf P. K., Bradbeer C. Fat Metabolism in Higher Plants. «Annual Rev. Plant Physiol.», **10**, 197, 1959.

Zill L. P. a. Chenial G. M. Lipid Metabolism. «Annual Rev. Plant Physiol.», **13**, 225, 1962.

Глава XIII

АМИНОКИСЛОТНЫЙ И БЕЛКОВЫЙ ОБМЕН РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

«Из обмена веществ посредством питання и выделения, — обмена, составляющего существенную функцию белка, — и из свойственной белку пластичиости вытекают все прочие простейшие факторы жизни.....»

Ф. Энгельс

УСВОЕНИЕ АЗОТИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ОРГАНИЗМАМИ

Для бо́льшей части культивируемых человеком растений источником азота являются аммиак и нитраты почвы. Лишь некоторые из растений способны усваивать непосредственно молекулярный азот атмосферы и превращать его в органические азотистые вещества своего тела. Источником аммиака в почве являются остатки и выделения животных и растений, разлагающиеся в почве под влиянием жизнедеятельности живущих в ней микроорганизмов. Разложение органических азотистых соединений, попадающих в почву с остатками и выделениями растений и животных, происходит таким образом, что, в конце концов, из них образуется аммиак. Процесс разложения в почве белков, аминокислот, мочевины и других органических азотистых соединений получил название аммонификации, а вызывающие его почвенные организмы — аммонификаторов.

Эти микроорганизмы обладают очень активными ферментами, благодаря которым и происходит быстрое разложение белков и других азотистых соединением. При разложении белков аммонификаторы прежде всего гидролизуют их с помощью мощных протеолитических ферментов, образуя аминокислоты. Свободные аминокислоты подвергаются далее дезаминированию с образованием в конечном счете аммиака.

Процесс дезаминирования у аммонификаторов в зависимости от условий может происходить по-разному. Простейший путь дезаминирования — это так называемое гидролитическое дезаминирование, при котором из аминокислоты и воды образуется соответствующая оксикислота и аммиак:

$$RCH \cdot NH_2 \cdot COOH + H_2O = R \cdot CH \cdot OH \cdot COOH + NH_3.$$

Если разложение белков микроорганизмами идет в аэробных условиях, т. е. при доступе кислорода воздуха, то дезаминирование аминокислот приводит к образованию аммиака и соответствующих кетокислот:

$$R \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + \frac{1}{2}O_2 \rightleftarrows R \cdot CO \cdot COOH + NH_3.$$

При восстановительном дезаминировании из аминокислоты получается аммиак и соответствующая жирная кислота:

$$R \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + 2H \longrightarrow R \cdot CH_2 \cdot COOH + NH_3.$$

В анаэробных условиях, при которых часто происходит гниение белков, многие микроорганизмы разлагают аминокислоты таким образом, что одна из них окисляется, а другая восстанавливается, причем выделяется аммиак:

$$R^1 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + R^2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH + H_2O \rightleftarrows R^1 \cdot CO \cdot COOH + \\ + R_2 \cdot CH_2 \cdot COOH + 2NH_3.$$

Образовавшаяся кетокислота снова вступает в окислительно-восстановительную реакцию еще с одной молекулой исходной аминокислоты. При подобном сопряженном окислительно-восстановительном разложении гликокола и аланина суммарное уравнение процесса имеет следующий вид:

$$\underset{\text{аланин}}{CH_3 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH} + \underset{\text{гликокол}}{2NH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH} \longrightarrow \underset{\text{уксусная кислота}}{3CH_3COOH} + 3NH_3 + CO_2.$$

При анаэробных условиях в почве может происходить также декарбоксилирование аминокислот. При этом из аминокислоты образуется амин и углекислый газ:

$$R \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH \longrightarrow R \cdot CH_2 \cdot NH_2 + CO_2.$$

Образовавшийся амин разлагается далее бактериями до углекислого газа, воды и аммиака.

При разложении белков аммонификаторами обычно имеет место взаимодействие различных микроорганизмов. Так, например, *Bacillus cereus* с помощью чрезвычайно энергичных протеаз гидролизует белок на свободные аминокислоты, которые затем подвергаются дальнейшему разложению с образованием аммиака под влиянием *Bacterium fluorescens*. Таким образом, настоящим аммонификатором является именно последняя бактерия.

Разные почвенные бактерии обладают различной способностью к аммонификации белков. Одним из наиболее энергичных аммонификаторов является бактерия *Bacillus mycoides*, в особенно большом количестве развивающаяся в навозе.

Значительное количество аммиака образуется в почве при разложении мочевины, попадающей в почву с навозом и нечистотами. Аммонификация мочевины осуществляется особой группой бактерий — уробактериями. По-видимому, процесс разложения мочевины уробактериями идет таким образом, что наряду с аммиаком образуется аммонийная соль карбаминовой кислоты:

$$\mathrm{CO}\begin{matrix}\diagup NH_2\\ \diagdown NH_2\end{matrix} + H_2O \rightarrow NH_3 + \begin{matrix}HO\diagdown\\ H_2N\diagup\end{matrix}\mathrm{CO} \rightarrow \begin{matrix}NH_4O\diagdown\\ H_2N\diagup\end{matrix}\mathrm{CO}$$

мочевина — карбаминовая кислота — аммонийная соль карбаминовой кислоты

Образовавшаяся аммонийная соль карбаминовой кислоты далее взаимодействует с какой-либо оксикислотой, образующейся в результате жизнедеятельности бактерий, и дает двууглекислый аммоний и соответствующую аминокислоту. Так, например, взаимодействие с молочной кислотой, являющейся обычным продуктом жизнедеятельности бактерий, приводит к образованию аланина и двууглекислого аммония:

$$\begin{matrix}NH_4O\diagdown\\ H_2N\diagup\end{matrix}\mathrm{CO} + CH_3\cdot CH\cdot OH\cdot COOH \longrightarrow CH_3\cdot CH\cdot NH_2\cdot COOH + NH_4HCO_3.$$

аммонийная соль карбаминовой кислоты — молочная кислота — аланин

Аммиак, образовавшийся в почве при аммонификации органических азотистых соединений, либо поглощается корневой системой растений, либо подвергается окислению до нитритов и нитратов благодаря жизнедеятельности нитрифицирующих бактерий. Образующиеся при этом нитраты так же, как и аммиак, поглощаются корневой системой и используются растениями для построения аминокислот, белков и других азотистых соединений.

Некоторые из свободно живущих в почве микроорганизмов способны усваивать молекулярный азот воздуха и превращать его в аминокислоты и белки своего тела. Эти микроорганизмы, открытые в 1894 г. С. Н. Виноградским, играют очень большую роль в обогащении почвы азотистыми соединениями, а следовательно, в повышении ее плодородия.

На каждом гектаре почвы свободно живущие бактерии связывают ежегодно от 20 до 50 *кг* атмосферного азота. Недаром Д. И. Менделеев писал в свое время: «Вопрос о способах превращения азота воздуха в почвенные азотистые соединения или в ассимилируемый азот, способный поглощаться растениями и давать в них сложные (белковые) вещества, составляют один из таких вопросов, которые представляют великий теоретический и практический интерес»[1].

Главными из свободно живущих почвенных бактерий, способных ассимилировать азот воздуха, являются анаэробные бактерии *Clostridium* и аэробные, принадлежащие к роду *Azotobacter*.

Химические превращения, происходящие при ассимиляции азота указанными свободно живущими почвенными бактериями, пока еще не разъяснены. С. Н. Виноградский и С. П. Костычев высказали гипотезу, согласно которой первым продуктом усвоения молекулярного азота этими бактериями является аммиак, который да-

[1] Д. И. Менделеев. Основы химии, т. 1, 1947, стр. 479.

лее вступает в реакции с различными продуктами превращения углеводов и дает аминокислоты. Другая гипотеза предполагает, что азот воздуха сначала присоединяет к себе две молекулы воды, в результате чего образуется гидрат азота (диоксигидразин):

$$\begin{array}{c} HO-N-N-OH \\ \;\;\;|\;\;\;\;| \\ \;\;\;H\;\;\;H \end{array}$$

Этот последний затем подвергается восстановлению активным водородом, отнимаемым дегидрогеназами от каких-то органических соединений. В результате образуется гидроксиламин:

$$\begin{array}{l} HO-N-N-OH + 2H \rightarrow 2NH_2OH \\ \;\;\;\;\;\;\;|\;\;\;\;\;| \\ \;\;\;\;\;\;\;H\;\;\;\;H \end{array}$$

Гидроксиламин далее, вступая в соединение с веществами, содержащими карбонильную группу, дает азотистые органические соединения. Природа ферментативных систем, участвующих в фиксации молекулярного азота свободно живущими микроорганизмами почвы, также пока полностью не выяснена.

Установлено, что молекулярный азот воздуха могут также связывать некоторые живущие в почве микроскопические водоросли, принадлежащие к группе так называемых синезеленых водорослей. Это, например, доказано для синезеленых водорослей, населяющих рисовые поля. Показано также, что молекулярный азот усваивают некоторые лишайники, содержащие в своем теле в качестве симбионтов синезеленые водоросли.

Хотя пока еще не выяснена сущность и последовательность ферментативных реакций, лежащих в основе ассимиляции молекулярного азота свободноживущими бактериями, однако с помощью бесклеточных экстрактов из разрушенных клеток *Azotobacter*, *Clostridium* и синезеленых водорослей удалось воспроизвести *in vitro* процесс фиксации азота воздуха. Подобные опыты впервые были проведены А. Н. Бахом с сотрудниками, а за последние годы аналогичные исследования были осуществлены в США и Англии с помощью газообразных изотопов азота — «тяжелого» стабильного азота N^{15} и радиоактивного азота N^{13}. Таким образом, как Э. Бухнеру в свое время удалось доказать возможность спиртового брожения в экстрактах из дрожжей, удалось также показать возможность фиксации молекулярного азота бесклеточными экстрактами из азотфиксирующих бактерий и синезеленых водорослей.

Дальнейшие исследования природы и действия ферментативных систем, участвующих в биологической фиксации азота, не только позволяют понять сущность этого исключительно важного биологического процесса, но и укажут новые пути усовершенствования технологического процесса синтеза аммиака, требующего в химической промышленности высоких температур и давлений

и происходящего в клетке азотфиксирующего микроорганизма с исключительной эффективностью при обычной температуре и давлении.

С глубокой древности известно, что бобовые растения — люцерна, клевер, люпин и т. д. — не нуждаются в азотистых удобрениях и сами обогащают почву азотом. Таким образом, бобовые резко отличаются в этом смысле от всех других растений. Исследования показали, что бобовые растения способны усваивать азот воздуха. Этой способностью они обязаны бактериям, живущим на их корнях в особых желвачках, называемых клубеньками. Природа этих клубеньков была выяснена известным русским ботаником М. С. Ворониным, а свойства населяющих их бактерий, названных клубеньковыми, были детально исследованы польским микробиологом А. Пражмовским.

Клубеньковые бактерии связывают молекулярный азот воздуха только лишь тогда, когда они находятся в клубеньках бобового растения; будучи выделены из клубеньков в чистую культуру они теряют способность к усвоению молекулярного азота. По-видимому, для питания клубеньковых бактерий необходимы какие-то вещества, доставляемые им бобовым растением, на корнях которого они развиваются. Таким образом, развитие клубеньковых бактерий на корнях бобовых растений является примером симбиоза. Бактерии питаются теми органическими веществами, которые доставляет им высшее растение, а сами снабжают последнее азотистыми соединениями, образующимися в результате связывания молекулярного азота атмосферы. По-видимому, бобовое растение усваивает также азотистые вещества, образующиеся при отмирании бактерий в клубеньках. Химизм усвоения молекулярного азота клубеньковыми бактериями пока не выяснен.

Наиболее вероятной является гипотеза, высказанная С. Н. Виноградским, который полагает, что первичным продуктом связывания азота клубеньковыми бактериями является аммиак. Образовавшийся аммиак вступает в реакцию с α-кетоглютаровой кислотой и дает глютаминовую кислоту

$$NH_3 + HOOC \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH + 2H \rightleftarrows$$
$$\rightleftarrows HOOC \cdot CHNH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH + H_2O.$$

Глютаминовая кислота, связывая затем еще одну молекулу аммиака, дает глютамин. Кроме того, подвергаясь декарбоксилированию, переаминированию и другим превращениям, глютаминовая кислота может дать начало ряду аминокислот. По-видимому, эта схема связывания азота является общей как для клубеньковых бактерий, так и для свободно живущих азотфиксаторов *Clostridium* и *Azotobacter*. Она подтверждается фактом выделения глютаминовой кислоты клубеньками, а также опытами, приведенными с помощью меченого азота N^{15}. Оказалось, что в теле азотобактера, усваивавшего меченый азот, наибольшая концентрация этого последнего наблюдалась в глютаминовой кислоте. С другой стороны, если азотобактер получал в готовом виде аммиак, содержавший меченый азот, то и в этом случае наибольшая концентрация его была обнаружена в глютаминовой кислоте.

Большой интерес представляет факт наличия в клубеньках бобовых растений вещества, которое, по-видимому, тождественно с гемоглобином

крови. Так же, как и гемоглобин, это вещество легко присоединяет к себе молекулярный кислород и образует оксигемоглобин:

$$гемоглобин + O_2 \rightleftarrows гемоглобин \cdot O_2.$$

(оксигемоглобин)

Как показывают работы А. Виртанена, это вещество играет какую-то очень важную роль в обмене веществ клубеньков и клубеньковых бактерий. Это явствует из того, что оно содержится только лишь в клубеньках растений, зараженных «эффективными» (т. е. связывающими атмосферный азот) разновидностями клубеньковых бактерий. Вместе с тем окись углерода, которая с гемоглобином дает соединение, подобное оксигемоглобину, сильно угнетает фиксацию азота клубеньками.

Эти факты ясно свидетельствуют о весьма важной роли гемоглобиноподобных веществ в биохимических процессах, разыгрывающихся при связывании молекулярного азота клубеньковыми бактериями.

Процесс фиксации азота клубеньками бобовых растений стимулируется кобальтом. Однако каков биохимический механизм этой стимуляции — пока не ясно. Важнейшей задачей дальнейших исследований является выяснение всех этапов химизма такого важного для сельского хозяйства процесса, каким является связывание атмосферного азота свободноживущими и клубеньковыми бактериями.

Весьма интересной, практически важной и вместе с тем почти совершенно неизученной является проблема азотистого питания растений, имеющих на корнях так называемую микоризу — грибное образование, покрывающее корень снаружи или же проникающее внутрь корня. Микоризы имеются у огромного количества растений, особенно древесных и живущих на болотах. По-видимому, образование микориз облегчает питание растений, в частности усвоение ими азотистых соединений.

На это указывают опыты, проведенные с грибом *Boletus variegatus*, являющимся микоризным грибом проростков сосны (*Pinus silvestris*). Получая азот в виде меченной N^{15} глютаминовой кислоты, гриб передает этот меченый азот проростку сосны. Необходимо подчернуть, что, несмотря на всю важность выяснения физиологической роли микоризы и биохимических процессов, происходящих при азотистом питании микоризных растений, вопрос этот исследован совершенно недостаточно.

До настоящего времени не выяснена природа ассимилирующих молекулярный азот симбиотических микроорганизмов, развивающихся в корневых клубеньках некоторых древесных растений. К числу таких растений принадлежат, например, лох (*Eleagnus*) и ольха (*Alnus*). Интересно, что фиксация азота корневыми клубеньками этих растений, так же как и у бобовых, стимулируется кобальтом. Как показали опыты с меченым азотом N^{15}, в отличие от *Azotobacter*, *Clostridium* и клубеньков бобовых растений, где первыми продуктами ассимиляции молекулярного азота являются глютаминовая кислота и глютамин, в клубеньках ольхи меченый азот обнаруживается в первую очередь не только в глютаминовой кислоте, но и в цитруллине, содержание которого в клубеньках ольхи особенно велико.

Целый ряд растений использует в качестве источника азотистого питания белки и продукты их гидролитического распада. К числу таких растений относятся насекомоядные растения и растения-паразиты. Насекомоядные растения, подобные непентесу и росянке, или мухоловке, имеют специальные приспособления для улавливания насекомых в виде особых кувшинчиков, клейких железок или клейких двустворчатых листьев, закрывающихся при попадании на них насекомого. Эти насекомоядные растения выделяют весьма активные протеолитические ферменты, растворяющие белки, содержащиеся в теле насекомых. Так, например, волоски, находящиеся на поверхности листа росянки, выделяют клейкую и густую жидкость, которая содержит активный протеолитический фермент с оптимумом действия при pH 3,2; кувшинчики непентеса также содержат протеиназу, оптимум действия которой находится при pH3. Таким образом, протеиназы, выделяемые насекомоядными растениями, сходны с пепсином в том отношении, что оптимум их действия лежит в кислой зоне значений pH; однако имеющиеся данные все же указывают на то, что эти ферменты не тождественны с пепсином животных.

Паразиты, подобные заразихе, развивающейся на корнях подсолнечника, или же повилике, присасывающейся к стеблям многих культурных растений (например, табака), почти лишены хлорофилла, и процесс фотосинтеза в них практически не идет или же идет весьма слабо. Высасывая соки из растения-хозяина, на котором они паразитируют, заразиха, повилика и другие подобные им бесхлорофильные растения-паразиты в качестве источника азотистого питания несомненно используют аминокислоты и другие продукты расщепления белка. Однако какие-либо точные данные об азотистом питании этих растений пока отсутствуют.

Ассимилировать органические азотистые соединения могут не только бобовые растения, усваивающие аминокислоты, образующиеся в клубеньках, не только паразиты и насекомоядные растения, но также и все другие высшие растения. Это показано с помощью так называемых стерильных культур высших растений, когда эти последние культивируются на питательных растворах в условиях, исключающих возможность развития микроорганизмов. Техника подобных стерильных культур была в совершенстве разработана академиком Д. Н. Прянишниковым и его учениками, в первую очередь Г. Г. Петровым. Опыты, проведенные с помощью этой методики, показали, что как целые растения, так и отдельные органы и кусочки тканей растений могут расти и развиваться, получая в качестве источника азотистого питания такие вещества, как смесь различных аминокислот, мочевину, аспарагин или гидролизаты белка. Так, например, установлено, что проростки табака или зародыши, выделенные из семян различных растений, могут усваивать в качестве источника азота смесь аминокислот; проростки кукурузы используют аспарагин, ячмень — лизин, а корни то-

матов — гликокол. Весьма интересны данные, указывающие на то, что многие растения могут усваивать непосредственно в неизмененном виде мочевину, вносимую в почву в большом количестве с навозом. Однако, несмотря на то, что высшие зеленые растения могут усваивать органические соединения азота и могут строить из них белки, нормальное развитие этих растений возможно только лишь в том случае, если они находятся на свету и образуют органическое вещество путем фотосинтеза. По-видимому, как это было высказано В. Сапожниковым и академиком С. П. Костычевым и как это следует из работ Г. Бурштрема и А. А. Ничипоровича, процесс синтеза белка в растении теснейшим образом связан с фотосинтезом.

Бо́льшая часть низших бесхлорофильных растений — грибов и бактерий — может питаться неорганическими азотистыми веществами — аммиаком и нитратами, даваемыми им одновременно с каким-либо готовым источником углеродистого питания, например сахаром. Таким образом, эти растения так же, как и высшие зеленые растения, содержащие хлорофилл, коренным образом отличаются от животных тем, что могут строить все аминокислоты и белок своего тела за счет неорганических азотистых соединений.

Вместе с тем высшие растения отличаются от животных тем, что ассимилированный ими азот не теряется с выделениями, подобными моче и экскрементам. Таким образом, в отличие от животного растение чрезвычайно экономно обходится с ассимилированным азотом.

Наряду с аммиаком и нитратами грибы и бактерии могут усваивать также азот различных органических соединений. Все источники азотистого питания низших бесхлорофильных растений могут быть разделены на три группы: 1) неорганические источники азота — аммиак, нитриты и нитраты; 2) такие органические азотистые соединения, азот которых должен предварительно подвергнуться минерализации, т. е. превращению в аммиак, и 3) органические азотистые соединения, которые могут ассимилироваться грибами и бактериями в неизмененном виде; к их числу принадлежат содержащиеся в белках природные аминокислоты.

Понятно, что микроорганизмы, способные ассимилировать молекулярный азот атмосферы, — как свободно живущие (*Clostridium* и *Azotobacter*), так и клубеньковые бактерии — составляют особую, четвертую группу.

Для грибов, как правило, наилучшим источником азотистого питания являются аммиачные соли; нитраты и нитриты усваиваются низшими бесхлорофильными растениями хуже, чем аммиак. Необходимо отметить, что лучшее или худшее усвоение аммиака или нитратов низшими бесхлорофильными растениями зависит от химической природы источника углеродистого питания. Так, например, грибы, развивающиеся на сахаре, усваивают нитраты так же хорошо, как и аммиачные соли; однако, если источником

углеродистого питания для этих грибов служит маннит, то аммиачные соли усваиваются значительно лучше, чем нитраты.

В большинстве случаев грибы и бактерии при питании органическими азотистыми соединениями разлагают их, превращая содержащийся в них азот, в конце концов, в аммиак и используя этот последний для построения аминокислот и белков, входящих в состав их тела. Химизм процессов, происходящих при аммонификации органических азотистых веществ, описан выше (стр. 469).

Нужно отметить, что различные органические соединения азота в разной степени могут удовлетворять потребность грибов или плесеней в азотистом питании. Так, например, если за 100 принять питательную ценность фосфорнокислого аммония, обеспечивающего хороший рост и развитие дрожжей, то соответствующая величина для гликокола будет равна 15, лизина — 8, аланина — 68, глютаминовой кислоты — 124, аспарагиновой кислоты — 128 и аспарагина — 142. Эти различия отчасти объясняются тем, что различные азотистые соединения с разной скоростью дезаминируются дрожжами. Вместе с тем, по-видимому, безазотистые соединения, остающиеся после отщепления аммиака от того или иного органического источника азота, в различной степени могут удовлетворять потребность дрожжей в углеродистом питании.

Как показали новейшие исследования, аминокислоты могут усваиваться дрожжами и другими микробами также в неизмененном виде, не подвергаясь предварительному разложению с образованием аммиака.

Некоторые микроорганизмы не могут строить белки только из неорганических источников азота и требуют для своего роста и развития целый ряд аминокислот, которые усваиваются ими в неизмененном виде. Таким образом, эти микроорганизмы по способу своего азотистого питания сходны с животными, которые также не могут синтезировать многих (около 10) аминокислот, называемых поэтому «незаменимыми» (см. стр. 33), или обязательными. К числу подобных микроорганизмов, нуждающихся в «незаменимых» для них аминокислотах, относятся, например, золотистый стафилококк, вызывающий образование гнойных ран, гемолитический стрептококк и молочнокислые бактерии. В зависимости от физиологических особенностей микробов количество «незаменимых» для них аминокислот различно. Так, например, для золотистого стафилококка обязательно наличие в питательной среде всего лишь двух аминокислот — триптофана и цистина; для молочнокислой бактерии *Lactobacillus casei* обязательно наличие 16 аминокислот, а для гемолитического стрептококка — 17. Таким образом, как это видно из табл. 25, гемолитический стрептококк, являющийся развивающимся в крови паразитом, по своей потребности в «незаменимых» аминокислотах значительно превосходит животный организм.

Это свойство указанных микроорганизмов развиваться лишь при наличии в питательной среде обязательных для них аминокислот широко используется в настоящее время для количественного определения этих последних. Так, например, для таких аналити-

ческих целей очень часто используются молочнокислые бактерии, и в частности упоминавшийся выше *Lactobacillus casei.*

Таблица 25

Аминокислоты, обязательные для животных и некоторых микробов
(знаком «+» обозначены обязательные аминокислоты, знаком «—» необязательные, а «±» те из них, которые необязательны, но все же улучшают развитие организма)

Аминокислоты	Животные	Микробы		
		гемолитические стрептококки	молочнокислые бактерии	золотистый стафилококк
Лизин	+	+	±	—
Аргинин	±	+	+	—
Гистидин	+	+	±	—
Фенилаланин	+	+	+	—
Тирозин	—	+	+	—
Триптофан	+	+	+	+
Пролин	—	+	—	—
Гликокол	—	+	—	—
Аланин	—	+	±	—
Валин	+	+	+	—
Лейцин	+	+	+	—
Изолейцин	+	+	±	—
Серин	—	+	+	—
Треонин	+	+	±	—
Цистин	—	+	+	+
Метионин	+	+	±	—
Аспарагиновая кислота	—	—	+	—
Глютаминовая кислота	—	+	+	—

Принцип микробиологического метода количественного определения той или иной аминокислоты заключается в следующем: составляют питательную среду, содержащую все вещества, в том числе и все аминокислоты, необходимые для развития данного микроба, за исключением той аминокислоты, содержание которой в данном пищевом продукте определяется. В один ряд пробирок с этой средой добавляют возрастающие количества испытуемого пищевого продукта, а в другой ряд — возрастающие количества определяемой аминокислоты. Затем заражают все пробирки культурой применяемого для анализа микроба (например, *Lactobacillus casei*), и, сравнивая интенсивность роста бактерий в обоих рядах пробирок, вычисляют содержание в анализируемом продукте данной аминокислоты.

Аминокислоты, ассимилируемые микроорганизмами в неизмененном виде, могут играть двоякую роль — как вещества, необходимые для построения белков, содержащихся в теле данного микроба, или же как вещества, необходимые лишь в весьма незначительных количествах для построения активных групп тех или иных ферментов. В последнем случае аминокислоты являются своего

рода витаминами для микробов. Так, например, установлено, что β-аланин является подобным витамином для дрожжей, глютамин играет аналогичную роль в питании некоторых болезнетворных микроорганизмов, а глютаминовая кислота участвует в построении ферментов, катализирующих синтез пуриновых оснований и пептидов у молочнокислой бактерии *Lactobacillus casei*.

БИОХИМИЯ СИНТЕЗА АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ

Каковы же пути образования в растении аминокислот, этих основных структурных единиц, из которых строится белок?

Характерной особенностью растений, отличающей их от животных—является способность к синтезу всех входящих в состав белка аминокислот непосредственно за счет неорганических азотистых соединений — аммиака и нитратов. При этом у зеленых растений, содержащих хлорофилл и способных к фотосинтезу, источником углерода является углекислый газ; таким образом, они могут строить белки целиком за счет неорганических соединений. Этой же способностью обладают микроорганизмы-хемосинтетики. Все остальные лишенные хлорофилла низшие растения — грибы и бактерии — для синтеза белка, кроме аммиака или нитратов, нуждаются еще в готовом источнике углеродистого питания, которым обычно является сахар.

Каким же способом нитраты и аммиак преобразуются в теле растений в аминокислоты и затем в белки?

Прежде всего необходимо отметить, что свободный аммиак ядовит для растений и поэтому обычно при питании аммонийными солями растения не накапливают свободный аммиак в своем теле, а сразу же используют его на синтез аминокислот, белков или амидов. Нитраты же могут накапливаться в некоторых растениях в очень больших количествах. Так, например, значительные количества нитратов накапливаются в гречихе и табаке. Установлено, что нитраты, прежде чем вступить во взаимодействие с углеводами или продуктами их превращений, подвергаются восстановлению до нитритов и затем до аммиака. Это показано при кормлении зеленых растений, а также плесневых грибов избыточными дозами нитратов или же при культивировании тех же организмов в условиях недостаточного снабжения углеводами. При этих условиях наблюдается выделение грибом или же корнями растений аммиака и нитритов. Вместе с тем установлено, что нитриты могут хорошо усваиваться растениями и служить для них источником азота.

А. Н. Бах еще в 1896 г. предполагал, что промежуточным продуктом при восстановлении нитратов в растениях является гидроксиламин. Это предположение впоследствии подтвердилось. Так, например, показано, что сок из листьев некоторых растений вызывает быстрое восстановление нитритов до гидроксиламина; вместе с тем, если в растение инфильтрировались одновременно нитриты и аскорбиновая кислота, являющаяся чрезвычайно энергичным

восстановителем, то образование гидроксиламина происходило особенно интенсивно. Гидроксиламин обнаружен также в культурах плесневых грибов и одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella*. Процесс ферментативного восстановления нитратов до аммиака идет следующим образом:

$$\underset{\text{нитраты}}{HNO_3} \rightarrow \underset{\text{нитриты}}{HNO_2} \rightarrow \underset{\text{гипонитрит}}{(HNO)_2} \rightarrow \underset{\text{гидроксиламин}}{NH_2OH} \rightarrow \underset{\text{аммиак}}{NH_3}$$

Из некоторых бактерий, плесеней и высших растений выделены ферментные препараты, которые восстанавливают нитраты до нитритов и далее эти последние до гидроксиламина и аммиака; такие препараты выделены, например, из кишечной палочки *Esherichia coli*, из плесени *Neurospora crassa*, из листьев сои и пшеницы и из прорастающих семян бобовых растений. Ферменты, катализирующие восстановление нитратов до аммиака, представляют собою металлофлавопротеиды, т. е. флавиновые ферменты (см. стр. 307), для действия которых необходим тот или иной металл. Так, например, для действия флавопротеида, катализирующего восстановление нитратов до нитритов, необходим молибден; превращение нитрита в гипонитрит требует участия железа или меди, гипонитрита в гидроксиламин — железа или меди, а гидроксиламина в аммиак — марганца.

Таким образом, восстановление нитратов и нитритов до аммиака представляет собою процесс, имеющий универсальное значение. Этот процесс происходит в высших зеленых растениях, обладающих способностью к фотосинтезу, в выросших в темноте и потому лишенных хлорофилла так называемых этиолированных растениях, а также у грибов и бактерий.

Аммиак, поглощенный растением в виде аммонийных солей или же образовавшийся в нем в результате восстановления нитратов, вступая в реакцию с кетокислотами, образует аминокислоты. На важность этой реакции указывал в свое время академик С. П. Костычев, который писал, что в растении прямое аминирование кетокислот аммиаком — это общий способ первичного построения аминокислот. Этот путь синтеза аминокислот является основным, и, по-видимому, именно таким образом в растениях синтезируется ряд аминокислот. Так, например, реагируя под действием фермента аланиндегидрогеназы с пировиноградной кислотой, аммиак дает такую важную аминокислоту, как аланин:

$$\underset{\text{аммиак}}{NH_3} + \underset{\text{пировиноградная кислота}}{CH_3CO \cdot COOH} + 2H \rightleftarrows \underset{\text{аланин}}{CH_3CHNH_2 \cdot COOH} + H_2O.$$

Данное уравнение этой реакции является суммарным. В действительности же реакция протекает в две стадии. На первом этапе из аммиака и кетокислоты образуется иминокислота и вода:

$$NH_3 + CH_3 \cdot COCOOH \rightleftarrows CH_3 \cdot C{=}NH \cdot COOH + H_2O.$$

Иминокислота затем восстанавливается НАД · H_2; в результате образуется аминокислота, в данном случае аланин:

$$CH_3 \cdot C{=}NH \cdot COOH + 2H \rightleftarrows CH_3 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH.$$

Подобный способ образования аланина доказан для ряда бактерий, растений, а также для дрожжей.

Особенно легко аммиак реагирует с α-кетоглютаровой кислотой. Эта реакция идет в соответствии со следующим уравнением:

$$\underset{\text{α-кетоглютаровая кислота}}{HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH} + NH_3 + 2H \rightleftarrows$$

$$\rightleftarrows \underset{\text{глютаминовая кислота}}{HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH} + H_2O$$

Из дрожжей, многих бактерий и высших растений выделен фермент глютаматдегидрогеназа, катализирующий образование глютаминовой кислоты указанным образом.

Одна из дикарбоновых аминокислот — аспарагиновая — может синтезироваться путем присоединения аммиака к фумаровой кислоте:

$$HOOC \cdot CH{=}CH \cdot COOH + NH_3 \rightleftarrows HOOC \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH$$

Фермент аспартат-аммиак-лиаза, катализирующий эту реакцию, выделен из некоторых бактерий и содержится также в высших растениях.

Пировиноградная и α-кетоглютаровая кислоты являются важнейшими продуктами превращения углеводов в организме животных и растений. Поэтому описанная выше реакция образования аминокислот путем прямого аминирования кетокислот аммиаком имеет большое значение как путь, тесно связывающий между собой обмен углеводов, с одной стороны, и обмен аминокислот и белков, с другой. Эта тесная связь усугубляется еще тем, что аминокислоты могут передавать свои аминные группы кетокислотам путем реакции ферментативного переаминирования, описанной на стр. 324. Так, например, глютаминовая или аспарагиновая кислоты, передавая свои аминные группы пировиноградной кислоте, дают аланин; глютаминовая и щавелевоуксусная кислоты образуют аспарагиновую кислоту и, наоборот, взаимодействие аспарагиновой и α-кетоглютаровой кислот приводит к образованию глютаминовой кислоты. По нашим данным, в растительном организме особенно интенсивно идут реакции переаминирования между глютаминовой кислотой и щавелевоуксусной или пировиноградной кислотами; аспарагиновая кислота реагирует значительно медленнее.

Образование аминокислот в растительном и животном организме может происходить также в результате ферментативного превращения одной аминокислоты в другую. Так, например, пролин,

присоединяя кислород, дает оксипролин. Подвергаясь дегидрированию и ряду дальнейших превращений, пролин может образовать орнитин или глютаминовую кислоту. Взаимосвязь этих аминокислот представлена на следующей схеме:

пролин $\xrightarrow{+\frac{1}{2}O_2}$ оксипролин

пролин $\xrightarrow{-2H}$ (дегидропролин) ⇄ (изомер)

$+H_2O$ ⇅ ; $+H_2O$, $+\frac{1}{2}O_2$ ⇅ глютаминовая кислота

$+NH_3$, $-H_2O$, H_2 ⇅ орнитин

пролин

оксипролин

глютаминовая кислота

орнитин

При этом необходимо подчеркнуть, что реакции, ведущие от пролина к глютаминовой кислоте и орнитину, обратимы. Таким образом, орнитин может являться исходным веществом для синтеза циклических пятичленных аминокислот — пролина, оксипролина и их производных.

Интересным примером превращения аминокислот, при котором происходит циклизация и образование шестичленного азотистого кольца, является синтез пипеколиновой кислоты из лизина. Этот процесс идет следующим образом:

CH_2
H_2C CH_2
H_2C $CH \cdot COOH$
NH_2 NH_2
лизин

переаминирование →

CH_2
H_2C CH_2
H_2C $C \cdot COOH$
NH_2 O

$- H_2O$ →

CH_2
H_2C CH_2
H_2C $C \cdot COOH$
N

$+2H$ →

CH_2
H_2C CH_2
H_2C $CH \cdot COOH$
NH
пипеколиновая кислота

Подобное превращение лизина в пипеколиновую кислоту показано с помощью лизина, меченного радиоактивным углеродом C^{14}, на примере растений фасоли и плесневого гриба *Neurospora crassa*. Необходимо подчеркнуть, что реакции подобного рода, приводящие к образованию пирролидиновых и пиридиновых гетероциклов, играют важную роль в процессах биосинтеза соответствующих алкалоидов из аминокислот. Гистидин под действием соответствующей ферментной системы дает глютаминовую кислоту и аммиак. Аргинин может превращаться в орнитин и мочевину под влиянием аргиназы. Доказано, что эта реакция происходит в проростках пшеницы и вики. Опыты с мечеными атомами показали, что фенилаланин может превращаться в тирозин, а гомоцистеин в метионин.

Все эти реакции являются примерами вторичного образования аминокислот при превращении одной из них в другую.

Каким же образом происходит соединение отдельных аминокислот в молекуле белка и какие ферменты катализируют этот процесс? Каким образом происходит синтез белка?

Проблема синтеза белка является одной из величайших проблем современной науки. Ф. Энгельс указывал в свое время: «Если

когда-нибудь удастся составить химическим путем белковые тела, то они, несомненно, обнаружат явления жизни и будут совершать обмен веществ, как бы слабы и недолговечны они ни были»[1].

Еще в 1878 г. один из основоположников биохимии в нашей стране А. Я. Данилевский указал на то, что протеолитические ферменты могут производить не только расщепление, не только гидролиз белка, но и его синтез из продуктов, образовавшихся при расщеплении.

Рядом работ, проведенных в его лаборатории, было показано, что под действием желудочного сока и препаратов протеолитических ферментов происходит обратный синтез высокомолекулярных соединений из продуктов гидролиза белка. Образующиеся при этом высокомолекулярные вещества были названы В. Завьяловым — одним из учеников А. Я. Данилевского — пластеинами. Исследования Данилевского и его сотрудников в области синтезирующего действия протеолитических ферментов были продолжены впоследствии целым рядом биохимиков. Эти работы подтвердили правильность наблюдений, сделанных в свое время Данилевским.

При исследовании пластеинов, полученных путем действия пепсина на гидролизаты кукурузного белка зеина, А. Виртаненом было установлено, что аминокислотный состав пластеинов и исходного зеина одинаков, что ясно видно из следующих данных:

Аминокислоты	*Пластеин*	*Зеин*
Аргинин + гистидин	7,1	7,0
Глютаминовая кислота + аспарагиновая кислота + аланин + валин + лейцин + +изолейцин + фенилаланин + метионин . . .	39,6	39,3
Пролин	8,7	9,7
Тирозин	3,6	3,1

Целый ряд исследований, в которых был показан ферментативный синтез пептидов, проведен М. Бергманном и его сотрудниками с папаином. Так, например, под действием папаина происходит конденсация бензоилглицина с глицинанилидом, сопровождающаяся образованием пептидной связи:

$$\underbrace{C_6H_5-\underset{\underset{H}{|}}{N}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_2-\underset{\underset{H}{|}}{N}H}_{\text{глицинанилид}}+\underbrace{HO\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_2\underset{\underset{H}{|}}{N}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-C_6H_5}_{\text{бензоилглицин}}\rightarrow H_2O+$$

$$+C_6H_5\underset{\underset{H}{|}}{N}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_2-\underset{\underset{H}{|}}{N}\underset{\uparrow\,\text{пептидная связь}}{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_2-\underset{\underset{H}{|}}{N}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-C_6H_5$$

[1] Ф. Энгельс. Диалектика природы, 1955, стр. 244.

Весьма существенно, что подобные синтезы протекают при тех же условиях pH, температуры и концентрации, при которых папаин проявляет свое наиболее активное гидролитическое действие. В данном случае сдвиг равновесия в сторону синтеза достигается тем, что продукт реакции, имея очень незначительную растворимость, сразу же после образования выпадает из раствора в виде кристаллов.

Мы до сих пор имели в виду, что синтез полипептидов и белков может совершаться в организме путем обращения гидролитического действия протеолитических ферментов. Однако в главе VI, рассматривая свойства этих ферментов, мы указывали, что они катализируют также и реакции транс-пептидации (стр. 327). Несомненно, что подобные реакции могут играть существенную роль в синтезе белка. Об этом, например, свидетельствуют результаты опытов, проведенных Д. Фрутоном с фицином. При действии этого фермента на карбобензокси-L-изоглютамин и L-метионинамид путем реакции транс-пептидации образуется полипептид, в котором на 11 остатков метионина приходится один остаток глютаминовой кислоты. Таким образом, он представляет собою карбобензокси-L-глютамил-(L-метионил)$_{10}$-L-метионинамид. При этом особенно интересно, что если природный L-метионинамид заменить D-метионинамидом, то синтез не идет. Этот пример показывает, что дальнейшее изучение реакций транс-пептидации является весьма важным.

Рассмотренные нами до сих пор примеры синтеза пептидов и белковоподобных соединений типа пластеинов свидетельствуют об обратимости действия протеолитических ферментов и возможности их участия в синтезе белка.

В пользу гипотезы о постепенном синтезе белковой молекулы из аминокислот говорит также тот факт, что в ряде растений — в листьях райграсса и *Bryophyllum*, в созревающих семенах, в различных водорослях, грибах и т. д. обнаружены разнообразные пептиды, содержащиеся в них в довольно заметных количествах. Конечно, нужно считаться с возможностью того, что эти пептиды могут образовываться в результате расщепления белков и их нахождение в растениях не может служить решающим доказательством предположения, согласно которому синтез белка идет постепенно, через стадию пептидов. В этом отношении более убедительными являются результаты исследования азотистых веществ в созревающих семенах. Так, например, показано, что при созревании семян гороха по мере снижения содержания аминокислот происходит нарастание содержания пептидов; начинающийся затем на более поздних фазах созревания энергичный синтез белков сопровождается резким уменьшением содержания в семенах пептидов. Наконец, нужно отметить, что имеются данные, полученные с помощью меченых пептидов и аминокислот, которые свидетель-

ствуют о том, что пептиды быстрее включаются в состав белков, чем свободные аминокислоты.

За последние годы широкое распространение получила «матричная» теория биосинтеза белка. Согласно этой теории, синтез белка в организме осуществляется путем соединения аминокислот на поверхности какого-то шаблона, какой-то «матрицы», структура которой определяет строение молекулы синтезируемого белка. Большинство исследователей, работающих над проблемой биосинтеза белка, считает, что роль «матрицы» в этом процессе играет нуклеиновая кислота.

Роль нуклеиновой кислоты в качестве «шаблона», на котором происходит синтез белка из аминокислот, может быть представлена в виде несколько измененной схемы Э. Гейла, изображенной на рис. 79.

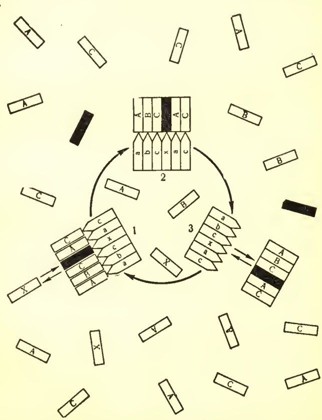


Рис. 79. Схема участия нуклеиновой кислоты в синтезе белка. Заостренные с одной стороны частицы (a, b, c, x) изображают группы нуклеотидов в молекуле нуклеиновой кислоты, прямоугольники изображают различные аминокислоты (A, B, C, X)

Как видно из схемы, каждая группа нуклеотидов обладает сродством к определенной аминокислоте, вследствие чего аминокислоты располагаются вдоль молекулы нуклеиновой кислоты в строго определенном порядке (положение 1). Затем аминокислоты соединяются между собой (положение 2) и выделяются в виде готовой молекулы белка (положение 3).

Необходимо подчеркнуть, что синтез белка в организме происходит за счет энергии, выделяющейся при дыхании и брожении. Как мы уже неоднократно указывали, в улавливании и использовании этой энергии клеткой важнейшую роль играют макроэргические соединения, в первую очередь аденозинтрифосфорная кислота. Поэтому теория «матрицы» предполагает, что ферментативный синтез белка в живых системах начинается с процесса активирования аминокислот. Ф. Липман развил взгляд, что при этом под действием специфических ферментов и при участии аденозинтрифосфорной кислоты как источника энергии активируется карбоксильная группа аминокислоты. В результате выделяется свободный пирофосфат и образуется связанный с ферментом комплекс, состоящий из аденозинмонофосфата и активированной аминокислоты. Ферменты, активирующие различные аминокислоты, найдены у микроорганизмов, животных, в листьях и проростках растений.

Для каждой аминокислоты имеется свой специфический фермент, активирующий именно данную аминокислоту — триптофан, фенилаланин и т. д. Под действием соответствующих ферментов активируются не только «природные» L-формы аминокислот, но и D-формы. Так, например, из *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus arabinosus* и из других микроорганизмов выделены ферменты, «активирующие» D-аланин. По-видимому, это «активирование» D-аланина представляет собой первую стадию в синтезе полипептидов, состоящих из остатков D-аланина и входящих в состав клеточных стенок многих микробов.

Схема процесса активирования аминокислоты представлена на рис. 80. Дальнейшие превращения комплекса активированной аминокислоты и аденозинмонофосфата происходят при участии так называемой растворимой рибонуклеиновой кислоты, имеющей молекулярный вес 10 000—40 000 и специфической для каждой данной аминокислоты. При этом активированная аминокислота связывается с молекулой этой растворимой рибонуклеиновой кислоты в соответствии со схемой: фермент + АМФ — активированная аминокислота + РНК→фермент + РНК — активированная аминокислота + АМФ. Затем образовавшийся комплекс растворимой рибонуклеиновой кислоты и активированной аминокислоты включается в рибонуклеопротеид рибосом — мельчайших частиц цитоплазмы, в которых уже происходит собственно процесс синтеза белка. Рибосомы представляют собою частицы приблизительно сферической формы (рис. 81), имеющие в диаметре 150—350 Å и

состоящие из приблизительно равных количеств белка и высокомолекулярной РНК (ее молекулярный вес от 390 000 до 1340 000). В составе рибосом найдены различные ферменты и свыше 20 белков основного характера.

ФЕРМЕНТ

аденозинтрифосфат: HO—P(=O)(O$^-$)—O—P(=O)(O$^-$)—O—P(=O)(O$^-$)—O—Ад

аминокислота: R—HC(NH$_3^+$)—C(=O)—O$^-$

⇅

ФЕРМЕНТ

пирофосфат: HO—P(=O)(O$^-$)—O—P(=O)(O$^-$)—O$^-$

комплекс фермента, аденозинмонофосфата и активированной аминокислоты: Ад—O—P(=O)(O$^-$)—O—C(=O)—HC(NH$_3^+$)—R

Рис. 80. Схема процесса активирования аминокислот

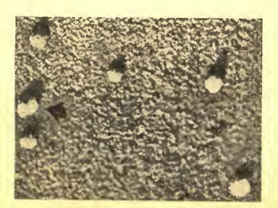


Рис. 81. Рибосомы пекарских дрожжей (увеличено в 120000 раз)

Из описанной нами схемы синтеза белка в живых системах очевидно, что исключительно важную роль в этом процессе играют нуклеиновые кислоты и в первую очередь рибонуклеиновая кислота. Еще В. И. Палладин установил, что имеется прямая связь между содержанием в ткани нуклеопротеидов и интенсивностью синтеза в ней белков. Эти наблюдения были подтверждены и развиты Т. Касперсоном, Ж. Браше, Э. Гейлом и рядом других исследователей, которые на самых различных объектах показали,

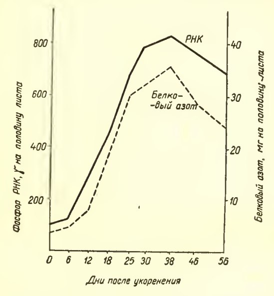


Рис. 82. Накопление белка и РНК в срезанном с растения желтеющем листе табака после его укоренения

что интенсивность синтеза белка в клетках и тканях теснейшим образом связана с содержанием в них рибонуклеиновой кислоты.

Хорошим примером этой связи являются результаты, полученные в опытах по укоренению срезанных с растения, желтеющих нижних листьев табака. Если обработать черешок такого листа гетероауксином, то он прекрасно укореняется, снова зеленеет и при культивировании на минеральном питательном растворе накапливает значительное количество белка.

На рис. 82 показано изменение содержания белка и РНК в таком листе после укоренения. Из рисунка ясно видно, что накопление белка происходит параллельно с накоплением в листе рибонуклеиновой кислоты.

Важная роль рибонуклеиновой кислоты в синтезе белка показана также экспериментальным путем с помощью различных мето-

дов. Так, например, установлено, что расщепление рибонуклеиновой кислоты ферментом рибонуклеазой подавляет способность клеток и тканей к синтезу белка. Синтез белка в клетках амебы и в корешках гороха или лука прекращается после их обработки рибонуклеазой; точно так же рибонуклеаза влияет на синтез белка в лишенных оболочек дрожжевых клетках; под действием рибонуклеазы вирус табачной мозаики теряет способность размножаться в тканях табачного растения; разрушенные ультразвуком клетки бактерий, сохраняющие еще способность синтезировать белок, теряют ее после воздействия рибонуклеазы; в рибосомах, выделенных из проростков кукурузы и гороха, в присутствии рибонуклеазы прекращается синтез белка.

Важным доказательством первостепенной роли рибонуклеиновой кислоты в синтезе белка являются уже упоминавшиеся ранее (см. стр. 74) опыты Г. Шрамма и Г. Френкель-Конрата. Этими опытами было установлено, что выделенная из вируса табачной мозаики рибонуклеиновая кислота, будучи введена в здоровый лист табака, вызывает в нем синтез белка, входящего в состав этого вируса.

Более того, если из вируса табачной мозаики выделить рибонуклеиновую кислоту, подвергнуть ее химической обработке азотистой кислотой, при которой изменяется нуклеотидный состав РНК, и затем такую химически модифицированную РНК ввести в растения табака, то они заболевают мозаичной болезнью, несколько отличной от обычной табачной мозаики.

При этой обработке содержащийся в рибонуклеиновой кислоте цитозин дезаминируется и превращается в урацил:

NH_2 — C; N, CH, CH; C=O; N — R $\xrightarrow{HNO_2}$ O= C; HN, CH, CH; C=O; N — R

цигозин   урацил

В соответствии с этим вновь синтезированный в тканях растения белок вируса табачной мозаики имеет несколько измененный аминокислотный состав. Таким образом, совершенно очевидно, что вызванное азотистой кислотой изменение состава и структуры РНК приводит к изменению состава и структуры белка, образующегося в листьях табака под влиянием этой химически измененной РНК.

Все эти факты ясно свидетельствуют о важнейшей роли рибонуклеиновой кислоты в синтезе белка.

Возникает вопрос о том, какую роль в синтезе белка играет дезоксирибонуклеиновая кислота, содержащаяся в ядрах клеток.

Опыты показали, что ядра, выделенные из клеток (например, из корешков гороха) с соблюдением всех предосторожностей и сохраняющие присущие им ферментативные функции, обладают способностью к синтезу белка, учитываемому по включению в белок меченых аминокислот. Если разрушить дезоксирибонуклеиновую кислоту этих ядер путем их обработки ферментом дезоксирибонуклеазой, то включение меченых аминокислот прекращается. Таким образом, дезоксирибонуклеиновая кислота играет важную роль в процессе синтеза некоторых ядерных белков.

Каким же образом в организме обеспечивается специфичность синтеза белков, каким образом в живой клетке регулируется процесс образования специфических белков-ферментов, свойственных данной клетке и определяющих характерный для нее тип обмена веществ? Выше мы указывали, что у некоторых вирусов, как, например, у вируса табачной мозаики, специфическая структура вирусного белка определяется содержащейся в вирусе рибонуклеиновой кислотой. Это следует из того факта, что очищенная РНК вируса, введенная в здоровое растение табака, вызывает в нем синтез специфического белка, входящего в состав данного вируса. Если у некоторых вирусов специфическая структура белка определяется вирусной РНК, то у всех других представителей живого мира способность к синтезу специфических белков и передача этой способности по наследству теснейшим образом связана с ДНК. Эта роль ДНК как фактора, определяющего структуру белков, синтезируемых данной клеткой, экспериментально доказана для ряда бактерий и бактериофагов.

Еще в 1944 г. было открыто явление так называемой трансформации бактерий. Оно заключается в следующем. Если в культуру бактерий одного вида ввести очищенный препарат ДНК, выделенный из другого вида бактерий, то под влиянием этого препарата бактерии приобретают передающиеся по наследству свойства, характерные для того вида микроорганизмов, из которого была выделена ДНК. Так, например, микроб *Streptococcus viridans* не сбраживает трегалозу и рафинозу. Если, однако, к его культуре прибавить препарат ДНК, выделенный из клеток определенного вида *Pneumococcus*, сбраживающего эти сахара, то стрептококк приобретает передающуюся по наследству способность сбраживать трегалозу и рафинозу. Если одновременно с препаратом ДНК к культуре прибавить расщепляющую ДНК кристаллическую дезоксирибонуклеазу, то никакой трансформации стрептококка не происходит. Таким образом, совершенно очевидно, что для того, чтобы в данном случае клетки стрептококка приобрели наследуемую способность синтезировать ферментные белки, необходимые для сбраживания рафинозы и трегалозы, ДНК, выделяемая из пневмококков должна сохранить свойственную ей специфическую

молекулярную структуру. Опыты по трансформации пневмококков показали, что клетки штамма, не сбраживающего маннит, приобретают наследуемую способность к его сбраживанию под влиянием препарата ДНК, выделенного из штамма пневмококков, обладающего такой способностью. При этом показано, что под действием препарата ДНК в клетках пневмококков, не способных сбраживать маннит, образуется специфический фермент маннит-6-фосфат-дегидрогеназа, необходимый для сбраживания маннита.

Важные факты, указывающие на первостепенную роль ДНК в процессе синтеза белков, были получены при изучении размножения бактериофагов, иначе часто называемых вирусами бактерий. Как известно, бактериофаг прикрепляется к оболочке бактерии и затем вводит в нее содержащуюся в нем ДНК с небольшим количеством белка. Под влиянием этих веществ, введенных в бактерию, в ней начинается преобразование ее содержимого и возникают многочисленные новые частицы бактериофага, которые разрушают, оболочку бактериальной клетки и выходят наружу. Таким образом, можно было думать, что для репродукции бактериофага в клетке бактерии, а следовательно, для синтеза всех белков, входящих в его состав, обязательно необходима как ДНК фага, так и то небольшое количество фагового белка, которое фаг вводит в бактерию. Однако если из некоторых штаммов бактериофага выделить очищенный препарат ДНК и прибавить его к бактериальным протопластам (т. е. бактериям, лишенным оболочки), то в протопластах начинается репродукция бактериофага.

Таким образом, синтез белков бактериофага со свойственной им специфической структурой и ферментативной активностью направляется именно препаратом фаговой ДНК.

Каковы же взаимоотношения ДНК и различных форм РНК в процессе синтеза белка в рибосомах? На основании огромного экспериментального материала, накопленного в настоящее время, процесс синтеза белка в рибосомах и участие в них ДНК и РНК представляются в следующем виде. Молекулярная структура ДНК, содержащейся в клеточном ядре, определяет структуру белков, синтезируемых в рибосомах. Таким образом, в молекулярной структуре ДНК как бы записана, зашифрована последовательность аминокислот в молекуле белка, синтезируемого в рибосоме.

Каким же образом происходит передача этого шифра в рибосому, где, собственно, и происходит синтез белка? Эта передача информации, зашифрованной в структуре ДНК, осуществляется посредством особой РНК, называемой «РНК-посредник» или, иначе, «информационная РНК». Эта фракция РНК составляет очень небольшую часть от всего количества РНК, содержащегося в клетке. Она обладает исключительно высокой активностью — очень быстро синтезируется и столь же быстро распадается. Передача в рибосому информации, зашифрованной в молекуле ДНК, через информационную РНК происходит благодаря тому, что пуриновые и пирими-

диновые основания, входящие в состав нуклеиновых кислот, как мы указывали ранее (см. стр. 69), обладают определенным сродством друг к другу: аденин всегда соединяется водородными связями с тимином, а гуанин — с цитозином.

Первый этап передачи «шифра» от ДНК заключается в том, что ее молекула, состоящая из двух спирально перевитых друг с другом и соединенных водородными связями полинуклеотидных цепочек, как бы «расплетается» на две составляющие ее цепочки. Затем содержащиеся в клетке свободные аденозинтрифосфат, цитидинтрифосфат, уридинтрифосфат и гуанозинтрифосфат присоединяются к соответствующим основаниям в цепочке ДНК и при участии фермента полимеразы (ДНК-нуклеотидилтрансферазы) (см. ниже) образуют полинуклеотидную цепочку информационной РНК; при этом освобождаются остатки пирофосфорной кислоты. Аденозинтрифосфат обязательно соединяется водородными связями с тимином ДНК, цитидинтрифосфат — с гуанином, уридинтрифосфат — с аденином, а гуанозинтрифосфат — с цитозином. Таким образом, последовательность оснований во вновь образовавшейся полинуклеотидной цепочке информационной РНК в точности соответствует их последовательности во второй цепочке ДНК, освободившейся при «расплетании» молекулы ДНК. Образовавшаяся таким образом, как бы изготовленная на штампе определенной формы, полинуклеотидная цепочка информационной РНК затем освобождается от связи со своим «штампом», т. е. от цепочки ДНК.

Отдельные этапы синтеза информационной РНК схематически представлены на рис. 83.

Образовавшаяся молекула информационной РНК, в которой последовательность оснований повторяет их последовательности в одной из полинуклеотидных цепочек ДНК, включается затем в рибосому, куда она передает заключенный в ней «шифр», согласно которому будет синтезирован соответствующий белок. Как мы уже указывали выше, в рибосому поступают также активированные аминокислоты, доставляемые туда «растворимой» РНК и соединяющиеся там в соответствующую полипептидную цепочку.

Весьма важно то, что специфическая структура синтезируемого в рибосомах белка определяется не природой рибосомы, а именно молекулярной структурой информационной РНК. Это следует из того, что если взять рибосомы, смесь аминокислот и необходимый комплекс ферментов из клеток одного организма, а информационную РНК — из клеток другого организма, то в рибосомах синтезируется белок, свойственный тому организму, из которого была получена информационная РНК. Замечательные доказательства того, что не происхождение рибосом, а молекулярная структура информационной РНК определяет структуру и свойства синтезируемого белка, были получены в опытах, в которых к рибосомам и смеси активируемых аминокислот добавляли синтетический полирибонуклеотид, а именно полиуридиловую кислоту. При этом в

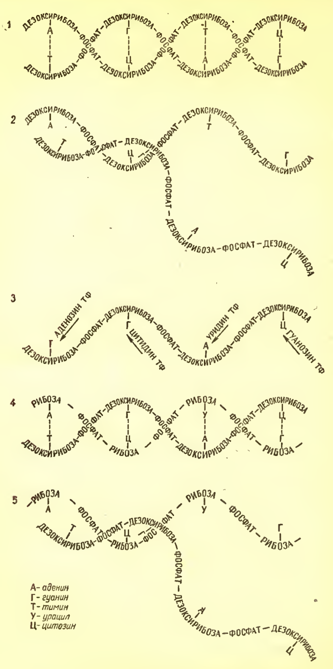


Рис. 83. Схема синтеза информационной РНК:

1 — схема молекулы ДНК, *2* — «расплетающаяся» молекула ДНК, *3* — одна из полинуклеотидных цепочек ДНК с присоединяющимися к ней в соответствующем месте трифосфатами аденозина, цитидина, уридина и гуанозина, *4* — комплекс полинуклеотидной цепочки-матрицы ДНК и вновь образовавшейся на ней полинуклеотидной цепочки информационной РНК, *5* — «расплетающийся» комплекс

рибосомах синтезировался полифенилаланин, т. е. полипептид, состоящий только из остатков фенилаланина. Эти опыты ясно показали, что не рибосома и не рибосомальная РНК, а именно поступающая в рибосому извне информационная РНК является специфической матрицей, контролирующей структуру синтезируемого белка. Вместе с тем эти опыты с синтетическими полинуклеотидами различной структуры указали путь для расшифровки того кода, того шифра, с помощью которого в нуклеиновой кислоте-матрице зашифрована специфическая последовательность аминокислот в синтезируемых белках. Идя по этому пути и используя синтетические полирибонуклеотиды различного состава, М. Ниренберг и С. Очоа с сотрудниками сделали первые шаги в направлении раскрытия этих комбинаций нуклеотидов, этого кода, в котором зашифрована последовательность аминокислот в белке, синтезируемом в рибосомах. Важно отметить, что код, по-видимому, является триплетным, т. е. включение в белок той или иной аминокислоты определяется комбинацией из трех нуклеотидов. Первые попытки определения аминокислотного кода дали результаты, приведенные в табл. 26.

Таблица 26

РНК-аминокислотный код (по М. Ниренбергу)
(обозначения: У—уридиловый нуклеотид; Ц—цитидиловый нуклеотид; А—адениловый нуклеотид; Г—гуаниловый нуклеотид)

Аминокислота	Нуклеотидные триплеты			
Аланин	ЦЦГ	УЦГ*		
Аргинин	ЦГЦ	АГА	УЦГ*	
Аспарагин	АЦА	АУА		
Аспарагиновая кислота	ГУА			
Цистеин	УУГ**			
Глютаминовая кислота	ГАА	АГУ*		
Глютамин	АЦА	АГА	АГУ*	
Глицин	УГГ	АГГ		
Гистидин	АЦЦ			
Изолейцин	УАУ	УАА		
Лейцин	УУГ	УУЦ	УУА	УУУ***
Лизин	ААА	ААГ****	ААУ****	
Метионин	УГА*			
Фенилаланин	УУУ			
Пролин	ЦЦЦ	ЦЦУ*****	ЦЦА*****	ЦЦГ*****
Серин	УЦУ	УЦЦ	УЦГ	
Треонин	ЦАЦ	ЦАА		
Триптофан	ГГУ			
Тирозин	АУУ			
Валин	УГУ			

* Потребность в У не выяснена;
** неясно, является ли кодирующим триплетом УУГ или ГГУ;
*** кодирует преимущественно фенилаланин;
**** не выяснена потребность в Г и У;
***** не выяснена потребность в УАГ.

Таким образом, совокупность экспериментальных данных, имеющихся в настоящее время в нашем распоряжении, свидетельствует о том, что, так сказать, «фабрикой белка» в клетке являет-

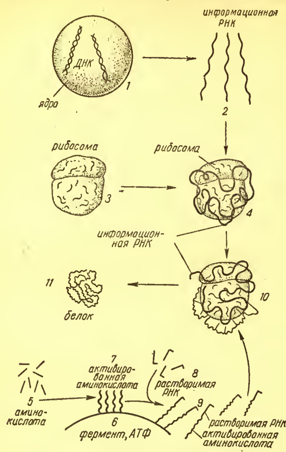


Рис. 84. Схема синтеза белка. Генетическая информация для синтеза белка закодироваиа в структуре ДНК в клеточиом ядре (*1*), которая управляет образоваиием молекул информациоииой РНК (*2*), содержащих ту же ииформацию. Иифорлационная РНК переиосит «штамп» к рибосомам (*3*, *4*). Тем времеием амииокислота (*5*) активируется специальным ферментом (*6*), активироваиная амиикислота (*7*) присоедииятся к специфической растворимой РНК (*8*) и комплекс (*9*) следует к рибосоме (*10*), где присоедииятся к соответствующему месту иа информациоииой РНК в соответствии с кодом. Затем аминокислоты сцепляются (*10*), образуя полипептидиую цепочку, которая «слущивается» с рибосомы в качестве синтезированного белка (*11*),

ся рибосома, в которую с помощью информационной РНК поступает «приказ» о том, какой белок должен быть синтезирован из активированных аминокислот, доставляемых в рибосому растворимой РНК.

На основании вышеизложенного мы можем представить процесс синтеза белка в рибосоме в виде схемы, изображенной на рис. 84. В дополнение к этой схеме нужно указать, что в настоящее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что молекула информационной РНК связывается сразу с несколькими рибосомами или их агрегатами, которые называют полирибосомами (полисомами).

Важно отметить, что рибосомы являются местом синтеза белка не только в цитоплазме, но и в ядре клетки, где этот синтез происходит при участии АТФ, активирующих аминокислоты ферментов, растворимой РНК и рибосом.

В процессе синтеза белка наряду с рибосомами и ядром особенно важную роль играют хлоропласты. Достаточно указать на то, что около 35—40% всего содержащегося в листьях белка находится в хлоропластах. Вместе с тем, как показали работы Н. М. Сисакяна, хлоропласты содержат рибонуклеиновую кислоту и ряд самых разнообразных ферментов, в том числе протеолитических. Прямые опыты, в которых исследовались продукты фотосинтеза у пшеницы, указывают на то, что, помимо углеводов, при фотосинтезе в значительном количестве образуются вещества, содержащие азот. Наконец, в пользу этого представления говорит также тот факт, что если выставить на свет этиолированные листья, то в них начинается превращение бесцветных пластид (лейкопластов) в хлоропласты. Исследования показали, что это превращение сопровождается энергичным синтезом белков в пластидах и одновременным значительным расходованием растворимых азотистых соединений, потребляемых в процессе синтеза белка. Таким образом, хлоропласты являются одним из главных мест синтеза белка в зеленых растениях. Вместе с тем весьма существенно то, что синтез белков в хлоропластах также осуществляется в рибосомах.

При этом нужно отметить, что, как показали исследования Н. М. Сисакяна с сотрудниками, в синтезе белка, происходящем в хлоропластах, исключительно важную роль играют липоиды.

Необходимо подчеркнуть, что если синтез белков протекает при участии нуклеиновых кислот, то сами нуклеиновые кислоты в свою очередь синтезируются благодаря каталитическому действию специфических белков-ферментов. Так, С. Очоа с сотрудниками показал, что из некоторых бактерий (*Azotobacter* и др.) и дрожжей могут быть выделены ферменты, которые в присутствии ионов магния катализируют синтез полинуклеотидов из нуклеозиддифосфатов. Подобные синтезы протекают в соответствии с уравнением:

$$n(A-R-ⓅⓅ) \rightleftharpoons (ARⓅ)_n + n\,Ⓟ$$

нуклеозид-дифосфат — *поли-нуклеотид*

В этом уравнении R обозначает рибозу, А — пуриновое или пиримидиновое основание (аденин, гипоксантин, гуанин, урацил или цитозин), (P) — остаток ортофосфорной кислоты, (PP) — остаток пирофосфорной кислоты. Фермент, катализирующий эту реакцию, называется полинуклеотидфосфорилаза.

Этот фермент выделен из *Azotobacter vinelandii* и ряда других микроорганизмов.

Полинуклеотидфосфорилаза катализирует не только синтез РНК из 4-х встречающихся в природе нуклеозиддифосфатов, но также синтез неприродных полирибонуклеотидов, состоящих из какого-либо одного, двух или трех различных нуклеотидов. Так, из аденозиндифосфата фермент синтезирует полиадениловую кислоту, из уридиндифосфата — полиуридиловую и т. д. Из смеси эквимолекулярных количеств аденозиндифосфата, гуанозиндифосфата, уридиндифосфата и цитидиндифосфата образуется синтетическая РНК, которая по своим свойствам, например по соотношению оснований и молекулярному весу, не отличается от природной РНК, содержащейся в том объекте, из которого был получен фермент. Полинуклеотидфосфорилаза почти не действует без наличия «затравки» в виде олигорибонуклеотида или полинуклеотида. Простетической группой полинуклеотидфосфорилазы, по-видимому, является олигонуклеотид, прочно связанный с белком и содержащий адениловую, гуаниловую, уридиловую и цитидиловую кислоты.

Возможность ферментативного синтеза показана не только в отношении рибополинуклеотидов, но также и в отношении дезоксирибонуклеиновой кислоты. Так, А. Корнберг с помощью очищенного фермента, выделенного из кишечной палочки (*Escherichia coli*) и названного им полимеразой, осуществил синтез дезоксирибонуклеиновой кислоты из смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов. Однако для осуществления этого синтеза требуются не только ионы магния, но и небольшое количество дезоксирибонуклеиновой кислоты, играющей роль затравки. Полимераза Корнберга (ДНК-нуклеотидилтрансфераза) синтезирует ДНК только лишь в том случае, если присутствуют все 4 дезоксинуклеотида и если присутствует ДНК, играющая роль затравки или же матрицы. По мнению Корнберга, ДНК, необходимая для синтеза, играет именно роль матрицы, направляющей синтез строго определенным образом, соответствующим ее структуре. Реакция ферментативного синтеза ДНК может быть выражена следующим уравнением:

$$\begin{matrix} n\text{TPPP} \\ n\text{дГPPP} \\ n\text{дAPPP} \\ n\text{дЦPPP} \end{matrix} + \text{ДНК} \rightleftarrows \text{ДНК} - \begin{bmatrix} \text{TP} \\ \text{дГP} \\ \text{дAP} \\ \text{дЦP} \end{bmatrix}_n + 4(n)\text{PP}$$

(обозначения: Т — тимидин; дГ — дезоксигуанозин; дА — дезоксиаденозин; дЦ — дезоксицитидин; Р — остаток фосфорной кислоты).

Механизм удлинения полинуклеотидной цепочки ДНК при этом синтезе может быть представлен в виде схемы, изображенной на рис. 85.

ДНК, искусственно синтезированная таким путем под действием препарата фермента, имеет молекулярный вес около 6000000 и по своим физическим свойствам и нуклеотидному составу не отличается от высокомолекулярной ДНК, выделенной из природных объектов.

Таким образом, разнообразные экспериментальные данные, накопленные наукой за последние годы, указывают на то, что в живой клетке процесс биосинтеза белка неразрывно связан с процессом биосинтеза нуклеиновых кислот, а этот последний, в свою очередь, неразрывно сопряжен с биосинтезом белка и становлением его каталитических функций.

Рис. 85. Механизм удлинения полинуклеотидной цепочки ДНК: обозначения: X, У и Z — основания, XTP-нуклеозид-трифосфат

БИОХИМИЯ ДИССИМИЛЯЦИИ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ

Мы до сего времени рассматривали процессы, происходящие при ассимиляции азотистых соединений растениями во время синтеза аминокислот и белка. Каковы же пути их расщепления и переработки в организмах, пути их диссимиляции, неразрывно связанной с процессами ассимиляции?

Диссимиляция белка в организме начинается с его гидролитического расщепления, происходящего под действием протеолитических ферментов и сопровождающегося образованием свободных аминокислот. Подобный процесс вторичного образования аминокислот происходит весьма энергично при прорастании семян, когда белки, содержащиеся в эндосперме или в семядолях семени, гидролизуются с образованием

свободных аминокислот и затем используются на питание развивающегося зародыша и построение тканей молодого растения.

Протеолитические ферменты, содержащиеся в прорастающих семенах, исследованы в настоящее время весьма детально. Особенно тщательно изучались протеолитические ферменты солода, широко применяемого в ряде отраслей пищевой промышленности.

Как показали исследования А. Н. Баха и А. И. Опарина, при прорастании зерна происходит резкое увеличение активности протеиназы — за 8 суток она возрастает приблизительно в 40 раз.

При изучении протеолитических ферментов проросшего пшеничного зерна было установлено, что оно содержит протеиназу с оптимумом действия при pH 5,1 и дипептидазу, оптимум которой находится в зоне pH от 7,3 до 7,9.

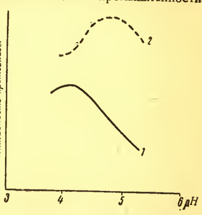


Рис. 86. Активирование протеиназы пшеничного солода цианидом: 1 — без цианида, 2 — с цианидом

Протеиназа пшеничного солода, таким образом, по своему отношению к активной кислотности среды сходна с ферментами типа папаина. Это сходство проявляется также в том, что как папаин, так и протеиназа солода активируются солями синильной кислоты. Активирующее действие цианида на протеиназу пшеничного солода показано на рис. 86.

Солодовая дипептидаза также активируется цианидами.

Протеиназы, содержащиеся в листьях, сходны по своим свойствам с ферментами типа папаина — их максимальное действие наблюдается при слабокислой реакции (около pH 5); подобно папаину, они активируются цианидами и сульфгидрильными соединениями (цистеином и глютатионом).

Доказательство того, что протеолитические ферменты растений действительно гидролизуют содержащиеся в этих растениях белковые вещества с образованием свободных аминокислот, может быть получено при исследовании превращений азотистых веществ в прорастающих семенах или же отделенных от растения и медленно увядающих листьях (при томлении табачных листьев). Так, например, в прорастающих семенах вики найдены заметные количества глютаминовой кислоты, лейцина, тирозина, аргинина, лизина, аспарагиновой кислоты и целого ряда других аминокислот. Точно так же показано, что в листьях и других органах растений может происходить гидролитическое расщепление белков под действием содержа-

щихся в них протеолитических ферментов типа папаина, в результате чего накапливаются свободные аминокислоты.

Чрезвычайно активные протеолитические ферменты содержатся в дрожжах.

Протеиназа дрожжей, так же как и протеиназы высших растений, сходна с папаином — она обнаруживает оптимум действия при pH 5,0 и активируется сероводородом. Дрожжи содержат также аминополипептидазу и дипептидазу с оптимумом при pH 7,8.

Таким образом, благодаря действию описанных выше протеолитических ферментов у высших растений и микроорганизмов аминокислоты могут образовываться, так сказать, вторичным путем.

Аминокислоты, синтезированные растением из неорганических азотистых веществ или же образовавшиеся вторичным путем в результате расщепления белков протеолитическими ферментами, могут подвергаться целому ряду ферментативных превращений.

Важнейшим этапом диссимиляции аминокислот является их дезаминирование с образованием свободного аммиака. При этом у высших растений основным путем дезаминирования является окислительное дезаминирование, при котором аминокислота, окисляясь, образует соответствующую кетокислоту и аммиак. Суммарное уравнение процесса окислительного дезаминирования приведено на стр. 469. Однако оно не отражает всех отдельных реакций, происходящих при дезаминировании. Окислительное дезаминирование является реакцией, обратной восстановительному аминированию кетокислот, рассмотренному нами выше. Поэтому первым этапом окислительного дезаминирования является отнятие двух атомов водорода от аминокислоты. Если, например, дезаминированию подвергается аланин, то реакция идет следующим образом:

$$\underset{\text{аланин}}{CH_3 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH} \xrightarrow{-2H} \underset{\text{иминокислота}}{CH_3 \cdot C{=}NH \cdot COOH}$$

Отнятый от аминокислоты водород затем окисляется кислородом воздуха до воды; поэтому в соответствии с суммарным уравнением окислительного дезаминирования на каждую молекулу дезаминируемой аминокислоты потребляется один атом кислорода. Образовавшаяся же иминокислота, подвергаясь гидролизу, дает кетокислоту (в данном случае пировиноградную) и аммиак:

$$CH_3 \cdot C{=}NH \cdot COOH + H_2O \rightarrow CH_3 \cdot CO \cdot COOH + NH_3$$

Окислительное дезаминирование аминокислот было изучено у высших растений, бактерий и грибов. Этот процесс имеет большое техническое значение в ряде бродильных производств, основанных на использовании спиртового брожения. Именно в результате дезаминирования образуется целый ряд побочных продуктов спиртового брожения, оказывающих большое влияние на качество готовой продукции — спирта, вина, пива. При дезаминировании аминокислот дрожжами образуются кетокислоты, которые подвер-

гаются в дальнейшем окислительно-восстановительным превращениям, в результате которых образуются так называемые сивушные масла — смесь различных одноатомных спиртов, придающих неприятный запах и привкус этиловому спирту, вину или пиву. Так, например, при дезаминировании лейцина получается соответствующая кетокислота, которая далее подвергается дрожжами декарбоксилированию с образованием соответствующего альдегида, а этот последний затем восстанавливается в соответствующий спирт — в данном случае изоамиловый:

$$(CH_3)_2CH \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH \xrightarrow{-2H}$$

лейцин

$$\longrightarrow (CH_3)_2CH \cdot CH_2 \cdot C{=}NH \cdot COOH \xrightarrow{+H_2O}$$

$$\longrightarrow (CH_3)_2CH \cdot CH_2CO \cdot COOH + NH_3;$$

$$(CH_3)_2CH \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH \xrightarrow{\text{декарбоксилаза}} CO_2 + (CH_3)_2CH \cdot CH_2 \cdot COH;$$

$$(CH_3)_2CH \cdot CH_2 \cdot COH \xrightarrow{+2H} (CH_3)_2CH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH.$$

изоамиловый спирт

Аналогичное превращение валина приводит к образованию изобутилового спирта, также являющегося составной частью сивушного масла.
Тирозин дает спирт тирозол:

$$HO{-}C_6H_4{-}CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH \xrightarrow{-2H;\,+H_2O+2H} HO{-}C_6H_4{-}CH_2 \cdot CH_2OH + NH_3 + CO_2.$$

тирозин → тирозол

Окислительное дезаминирование дикарбоновых аминокислот микроорганизмами и высшими растениями происходит по той же схеме, которая была изложена выше, т. е. через промежуточное образование иминокислоты. Так, например, глютаминовая кислота при дезаминировании дает α-кетоглютаровую кислоту:

$$HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH \xrightarrow{-2H} HOOC \cdot CH_2CH_2 \cdot C = NH \cdot COOH \longrightarrow$$

$$\xrightarrow{+H_2O} \underset{\alpha\text{-кетоглютароаая кислота}}{HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH} + NH_3$$

В случае, если дезаминирование происходит под действием дрожжей, то образовавшаяся α-кетоглютаровая кислота подвергается превращениям, аналогичным тем, которые имеют место при образовании сивушных масел. Она претерпевает декарбоксилирование с образованием соответствующего альдегида, который, в свою очередь, подвергается дальнейшему окислению, образуя янтарную кислоту:

$$HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH \xrightarrow{\text{декарбоксилаза}}$$

$$\rightarrow HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COH \xrightarrow{+\frac{1}{2}O_2} \underset{\text{янтарная кислота}}{HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH.}$$

По-видимому, источником янтарной кислоты, всегда образующейся в незначительном количестве при спиртовом брожении, является именно глютаминовая кислота, претерпевающая под действием дрожжей указанные превращения. Замечательным является то обстоятельство, что дрожжи дезаминируют и подвергают дальнейшей переработке только природные формы аминокислот (L-формы). Их так называемые «ненатуральные», или D-формы, дрожжи не разлагают. Этим пользуются для получения в чистом виде «ненатуральных» форм аминокислот, содержащихся в рацемических смесях. Дезаминирование аминокислот в высших растениях происходит особенно интенсивно в прорастающих семенах и в молодых, растущих тканях, отличающихся чрезвычайно энергичным обменом веществ. В проростках злаков и бобовых растений, а также в клубнях картофеля наиболее интенсивно дезаминируются глютаминовая и аспарагиновая кислоты, причем доказано, что из глютаминовой кислоты образуется при этом α-кетоглютаровая кислота. В цветах тыквы и многих растений из семейства розоцветных также найдены ферменты, катализирующие дезаминирование аминокислот, причем в этих частях растений особенно интенсивно разлагается гликокол.

Дезаминирование аминокислот в высших растениях происходит несколько иначе, чем в животном организме, у бактерий и грибов. В растениях большую роль играют при этом «дыхательные хромогены» В. И. Палладина и окисляющая их полифенолоксидаза.

Поскольку дыхательные хромогены являются полифенолами, мы можем представить дезаминирование аминокислот в высшем растении в виде следующей схемы:

(I) $R-CH(NH_2)-COOH$ аминокислота → $R-C(=NH)-COOH$ иминокислота (дегидрогеназа); хинон → полифенол (дыхательный хромоген); полифенол + $\frac{1}{2}O_2$ → хинон + H_2O (полифенолоксидаза)

дегидрогеназа — полифенолоксидаза

(II) $$R-C(=NH)-COOH + H_2O \rightleftharpoons R-C(=O)-COOH + NH_3$$

Приведенная схема показывает, что водород, отнятый от аминокислоты дегидрогеназой, передается ею хинону (дыхательному пигменту, по терминологии В. И. Палладина), который при этом превращается в полифенол (дыхательный хромоген); полифенол снова окисляется полифенолоксидазой с образованием воды и хинона, который опять может вступить в реакцию. Образовавшаяся при дегидрировании иминокислота, взаимодействуя с водой, дает кетокислоту и аммиак. Как мы уже указывали ранее, примером такого дыхательного хромогена является хлорогеновая кислота (см. стр. 203). Ее участие в дезаминировании аминокислот у высших растений было показано А. И. Опариным. В его опытах водные экстракты из проростков подсолнечника, содержавшие дегидрогеназу и полифенолоксидазу, с помощью добавленной хлорогеновой кислоты энергично окисляли гликокол с образованием аммиака.

В высших растениях содержатся ферменты, катализирующие дезаминирование фенилаланина и тирозина с образованием аммиака и ненасыщенных ароматических кислот. Так, в ячмене, люцерне, горохе и рисе найдена дезаминаза, которая отщепляет аммиак от фенилаланина с образованием коричной кислоты:

$$C_6H_5-CH_2CH(NH_2)\cdot COOH \longrightarrow C_6H_5-CH{=}CH-COOH + NH_3$$

фенилаланин — коричная кислота

Из ячменя выделен фермент, расщепляющий тирозин на аммиак и *п*-кумаровую кислоту:

$$HO-C_6H_4-CH_2\cdot CH(NH_2)\cdot COOH \rightarrow HO-C_6H_4-CH{=}CH-COOH + NH_3$$

тирозин — *п*-кумаровая кислота

Рассмотренный нами процесс дезаминирования аминокислот является основным способом превращения азотистых веществ в

безазотистые соединения, которые могут быть затем использованы для дальнейшей переработки в углеводы и жиры.

Какова же судьба аммиака, образующегося при дезаминировании аминокислот? Аммиак в свободном виде обычно содержится в высших растениях в весьма незначительных количествах. Более высокие его концентрации ядовиты для живых клеток и тканей, поэтому растение чрезвычайно быстро превращает свободный аммиак в органические азотистые соединения. Если в данной ткани растения имеется достаточный запас углеводов, то аммиак, вступая в реакцию прямого аминирования с образующимися из углеводов кетокислотами, дает аминокислоты, которые затем используются на синтез белка.



Прянишников
Димитрий Николаевич
(1865—1948)

С другой стороны, как показал В. Руланд, в целом ряде растений, ткани которых отличаются высоким содержанием органических кислот — яблочной, щавелевой, изолимонной и других, образующийся при дезаминировании аммиак может связываться этими органическими кислотами в виде аммонийных солей. К числу подобных «кислых» или «аммонийных» растений принадлежат, например, бегония, щавель и ревень. Вследствие накопления в их тканях значительных количеств органических кислот клеточный сок этих растений имеет значение pH около 1,2—1,5; при избыточном питании аммиачными солями или же органическими азотистыми соединениями, быстро разлагающимися в растениях с образованием свободного аммиака, подобные «кислые» растения могут накапливать в своих тканях чрезвычайно большие количества аммиака в виде солей органических кислот.

Обезвреживание аммиака путем связывания его органическими кислотами имеет место лишь у довольно незначительного количества растений, принадлежащих к упомянутой выше группе «кислых». У большинства же высших растений обезвреживание аммиака, образующегося при дезаминировании аминокислот, происходит путем образования амидов — аспарагина и глютамина. Физиологическая роль этих амидов в растениях была выяснена благодаря классическим исследованиям Ж. Б. Буссенго, Э. Шульце и Героя Социалистического Труда академика Д. Н. Прянишникова.

Аспарагин и глютамин содержатся в различных органах и тканях высших растений: корнях, стеблях, листьях и плодах. Содержание аспарагина и глютамина может сильно колебаться в зависимости от условий развития и питания растений. При недостатке углеводов или же при избыточном питании азотистыми соединениями, особенно аммонийными солями, высшие растения могут накапливать чрезвычайно большие количества аспарагина и глютамина. При прорастании в темноте семян бобовых растений, содержащих сравнительно небольшой запас углеводов и очень большое количество белков, аммиак, образующийся в результате гидролитического расщепления белка и последующего дезаминирования аминокислот, обезвреживается в виде значительных количеств аспарагина. Так, например, прорастающий в темноте (этиолированный) люпин может накапливать до 11% аспарагина от сухого веса проростков. Если подобные этиолированные проростки выставить затем на свет, благодаря чему начнется процесс фотосинтеза и образования углеводов, то накопившийся аспарагин начнет интенсивно перерабатываться и использоваться для синтеза белков в молодых тканях ростка.

В этиолированных проростках других растений, таких, как, например, подсолнечник или тыква, накапливаются одновременно как аспарагин, так и глютамин. Некоторые же растения обезвреживают избыточный аммиак, образующийся при энергичном дезаминировании аминокислот или же при избыточном питании аммонийными солями, путем преобразования его главным образом в глютамин. К числу подобных растений относится, например, сахарная свекла, корни которой используются в лабораториях для получения чистых препаратов глютамина. Обычно сахарная свекла содержит незначительные количества глютамина. При усиленном же удобрении аммонийными солями, например сернокислым аммонием, корень сахарной свеклы может накапливать до 5,6% глютамина от сухого веса.

Как показал А. Чибнелл, иногда при избыточном питании аммонийными солями образующийся в значительном количестве глютамин выделяется растением наружу с капельками воды, появляющимися при гуттации на кончиках листьев; после испарения воды глютамин образует кристаллики, видные невооруженным глазом. Такая картина имеет место, например, при усиленном удобрении молодых растений райграсса (кормовой злак) сернокислым аммонием.

Хотя растения и накапливают по преимуществу аспарагин или глютамин, их нельзя разделять на «аспарагиновые» или «глютаминовые». Во всех растениях содержатся оба амида, но преобладает обычно один из них.

Вместе с тем необходимо отметить, что содержание аспарагина и глютамина различно в разных органах растения. Так, например, в корневищах такого классического «аспарагинового» растения, как спаржа, из которой аспарагин впервые был выделен, азот аспа-

рагина составляет 17,1% и азот глютамина — 9,8% от общего азота; в зеленых же частях спаржи найдено 1,7% глютаминового и 1,1% аспарагинового азота. Необходимо также отметить, что содержание аспарагина и глютамина изменяется в процессе развития растения.

В течение длительного времени предполагали, что аспарагин и глютамин образуются только в растениях и что они не могут образовываться в животном организме. Однако в настоящее время доказано, что это неверно. Так, например, Д. Л. Фердман с сотрудниками показал, что глютамин содержится в заметных количествах в различных тканях животного организма; В. А. Каплан и С. Р. Мардашевым установлено также наличие значительных количеств аспарагина в личинках насекомых и в организме человека.

Отмеченная нами выше роль аспарагина и глютамина как веществ, в виде которых обезвреживается аммиак, является лишь одной стороной физиологической роли этих амидов в организме. Не менее важную роль играют аспарагин и глютамин в качестве резерва дикарбоновых аминокислот, необходимых для осуществления реакции ферментативного переаминирования. Мы уже указывали ранее, что эта реакция имеет существенное значение для синтеза и взаимного превращения аминокислот в растительном организме. Особенно важную роль играет взаимодействие между глютаминовой и щавелевоуксусной кислотами (см. стр. 324). При ферментативном переаминировании между этими веществами образуются α-кетоглютаровая и аспарагиновая кислоты; обратная реакция между этими последними соединениями дает исходные вещества. Таким образом, благодаря этой реакции возможно взаимное превращение аспарагиновой кислоты в глютаминовую и обратно, а следовательно, — взаимопревращение аспарагина и глютамина.

Необходимо, однако, подчеркнуть, что в реакции ферментативного переаминирования могут принимать участие не только свободные аспарагиновая и глютаминовая кислоты, но также непосредственно аспарагин и глютамин.

Третья сторона физиологической роли аспарагина и глютамина в организме заключается в том, что образование этих амидов предохраняет от окисления дикарбоновые аминокислоты. Мы уже указывали ранее, что среди всех аминокислот особенно быстро подвергаются окислительному дезаминированию а с п а р а г и н о в а я и г л ю т а м и н о в а я кислоты. Вместе с тем автором с сотрудниками установлено, что введение в молекулы этих аминокислот амидной группировки предохраняет их от окисления растительными тканями. Таким образом, амидная группа аспарагина и глютамина является как бы замком, предохраняющим аспарагиновую и глютаминовую кислоту от окислительного распада.

Каким же путем образуются в растениях из аммиака аспарагин и глютамин и каковы ферментативные системы, катализирующие образование и распад этих амидов?

Имеющиеся в настоящее время в нашем распоряжении экспериментальные данные указывают на то, что амиды синтезируются из соответствующих аминокислот — аспарагиновой или глютаминовой. Таким образом, первый этап синтеза амидов заключается в образовании дикарбоновых аминокислот. Эти последние могут образоваться различными путями (см. выше) — при гидролитическом распаде белков, в результате прямого аминирования α-кетоглютаровой кислоты, и в результате реакции ферментативного переаминирования. Что же касается аспарагиновой кислоты, то, как указывалось ранее (стр. 301), она может образоваться под действием фермента аспартат-аммиак-лиазы, при взаимодействии аммиака и фумаровой кислоты.

Подобный механизм образования аспарагиновой кислоты доказан для некоторых бактерий и высших растений.

Современные схемы превращений азотистых веществ в растениях предполагают, что следующий этап синтеза амидов заключается в амидировании аспарагиновой или глютаминовой кислоты под действием соответствующих ферментов. Д. Вебстером показано, что синтез глютамина идет при участии аденозинтрифосфорной кислоты, дающей энергию, необходимую для осуществления данной синтетической реакции. Первая стадия синтеза глютамина заключается во взаимодействии фермента глютаминсинтетазы с АТФ по схеме:

$$\text{АТФ} + \text{фермент} \rightleftarrows \text{фермент} \sim \text{фосфат} + \text{АДФ}.$$

Далее комплекс фермент-фосфат активирует глютаминовую кислоту, в результате чего остаток фосфорной кислоты, содержащий макроэргическую связь, присоединяется к карбоксильной группе глютаминовой кислоты:

$$\text{фермент-фосфат} + HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH \rightleftarrows$$
$$\rightleftarrows \text{Ⓟ} \sim OOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH + \text{фермент}.$$

Следующая стадия синтеза глютамина заключается в замещении аммиаком остатка фосфорной кислоты и образовании таким образом амидной группы:

$$\text{Ⓟ} \sim OOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH + NH_3 \rightleftarrows$$

$$\rightleftarrows H_2NOC \cdot CH_2CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH + H_3PO_4.$$

Энергия, необходимая для осуществления этой последней стадии биосинтеза глютамина, черпается из макроэргической связи фосфатного остатка.

Некоторая часть накапливающихся в растениях аспарагина и глютамина может образовываться не описанным выше синтетическим путем из аммиака, а путем гидролиза белка. В настоящее время установлено, что содержащиеся в белках дикарбоновые аминокислоты присутствуют в них частично в виде соответствующих амидов. Вследствие этого при гидролитическом расщеплении за-

пасных белков могут образовываться аспарагин и глютамин. На возможность подобного гидролитического способа образования амидов в растении указывали в свое время академик И. П. Бородин, а также Г. Г. Петров и Т. Б. Осборн. Однако в течение длительного времени подобный путь образования аспарагина и глютамина полностью отрицался, и считалось, что амиды образуются в растительном организме исключительно синтетическим путем из аммиака. М. Дамодараном были получены экспериментальные доказательства того, что амиды могут образовываться также и при гидролитическом расщеплении белков под действием протеолитических ферментов. Так, например, при переваривании пепсином и трипсином глобулина из семян конопли — эдестина в гидролизате был найден, и идентифицирован аспарагин; в гидролизатах пшеничного белка глиадина, полученных при переваривании его протеолитическими ферментами, найден глютамин.



Бородин
Иван Парфеньевич
(1847—1930)

Все изложенные выше данные о превращении дикарбоновых аминокислот и их амидов указывают на весьма существенную роль этих веществ в азотистом обмене. Эта мысль подтверждается также данными, характеризующими содержание дикарбоновых аминокислот в растительных белках, и результатами опытов с меченым азотом.

Данные анализов аминокислотного состава растительных белков указывают на чрезвычайно высокое содержание в них аспарагиновой и глютаминовой кислот. Так, например, в эдестине конопли, зеине кукурузы и глиадине пшеницы содержание дикарбоновых аминокислот составляет от 32,7 до 46,1%, причем бо́льшая их часть содержится в виде амидов; в эдестине около 65% дикарбоновых аминокислот присутствует в виде амидов.

Таким образом, уже эти данные указывают на то, что при прорастании дикарбоновые аминокислоты должны играть весьма существенную роль в обмене веществ.

Особенно интересны в этом отношении данные Р. Шейнгеймера, Г. Виккери и др., полученные при изучении поглощения и распределения в тканях меченого азота, дававшегося растениям в виде сернокислого аммония, содержавшего изотопный азот — $(N^{15}H_4)_2SO_4$.

Подобные опыты, проводившиеся с табаком, подсолнечником, гречихой и томатами, показали, что в белках, полученных из растений, ассимилировавших меченый азот, концентрация последнего была наиболее высокой в глютаминовой и аспарагиновой кислоте; все другие аминокислоты содержали значительно меньшее количество изотопного азота. Эти данные ясно свидетельствуют о том, что аспарагиновая и глютаминовая кислоты особенно быстро синтезируются и претерпевают дальнейшие превращения в организме. Как мы указывали ранее, установлено, что дикарбоновые аминокислоты быстро окисляются в растениях. При этом нужно отметить, что глютаминовая кислота, которая при питании растений аммонийными солями, содержащими меченый азот, наиболее им богата, также значительно быстрее вступает в реакцию переаминирования и значительно быстрее дезаминируется, чем аспарагиновая кислота.

Помимо рассмотренных выше сторон физиологической роли дикарбоновых аминокислот и их амидов в растительных организмах необходимо указать на специфическую роль, которую играет глютамин в обмене веществ у некоторых микробов. Установлено, что для таких микроорганизмов, как болезнетворный гемолитический стрептококк, и в меньшей степени для молочнокислых бактерий *Streptococcus lactis* и *Lactobacillus arabinosus* глютамин необходим для нормального роста и развития. Таким образом, для этих микроорганизмов глютамин является витаминоподобным веществом, по-видимому, необходимым для синтеза каких-то ферментативных систем. Аспарагин не может заменить в этом отношении глютамина. Хотя биохимическая сущность действия глютамина на рост указанных микроорганизмов совершенно неясна, факт витаминоподобного действия глютамина наводит на мысль о том, что этот амид может играть и в высших растениях какую-то особую роль в обмене веществ. Имеется ряд веских соображений в пользу того, что глютаминовая кислота и глютамин играют особо важную роль в синтезе белка и его превращениях в процессе диссимиляции.

Все изложенные выше данные указывают на черты сходства и вместе с тем на существенное различие в превращениях и физиологической роли аспарагина и глютамина в высших растениях.

Мы уже указывали выше, что в настоящее время аспарагин и глютамин найдены не только в растениях, но также и в организме животных. Таким образом было установлено сходство обмена амидов у растений и животных. Это сходство сделалось еще более очевидным после того, как было установлено наличие значительных количеств мочевины в целом ряде растений и выявлена существенная роль ее в обмене веществ у грибов, бактерий и высших растений. Таким образом, было показано, что обезвреживание образующегося при дезаминировании аминокислот аммиака в виде мочевины свойственно не только животным, но также и различным представителям растительного мира.

Особенно большие количества мочевины могут накапливаться

в некоторых грибах. Так, например, по данным Н. Н. Иванова, содержание мочевины в шампиньонах может достигать 13,2%, а в грибах дождевиках (*Lycoperdon*) — 10,7% от сухого веса. Среди высших растений заметным содержанием мочевины отличаются те, которые имеют на корнях микоризу. Мочевина найдена также у некоторых бактерий, как, например, у живущей в почве аммонифицирующей бактерии *Bacillus mycoides* и у картофельной палочки *Bacillus mesentericus*, вызывающей картофельную болезнь хлеба.

Как показали исследования Н. Н. Иванова, мочевина в растениях играет роль, аналогичную аспарагину и глютамину. Она, следовательно, является веществом, в виде которого обезвреживается аммиак, образующийся при диссимиляции белков и аминокислот, и вместе с тем является источником азота, который используется для построения белков в случае, если в растении появляется достаточное количество углеводов. Использование мочевины для синтетических целей осуществляется в растениях благодаря наличию в них чрезвычайно активной уреазы, гидролизующей мочевину с образованием аммиака и угольной кислоты.

Каким же образом образуется м о ч е в и н а в растительных организмах? Н. Н. Иванов указал, что она может образовываться двумя путями. Один из этих путей является синтетическим, когда мочевина синтезируется из аммиака, появляющегося при диссими-

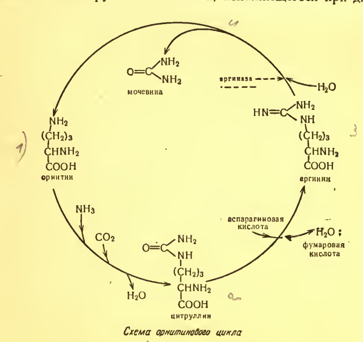


Схема орнитинового цикла

ляции белков и дезаминировании аминокислот, или же при избыточном питании растений аммонийными солями. Этот процесс наблюдается при культивировании грибов на растворах аммонийных солей. Необходимо отметить, что синтез мочевины в этих условиях возможен только лишь при доступе воздуха. Грибы, помещенные в атмосферу водорода, где они сохраняют прежнее содержание мочевины, вновь приобретают способность накапливать ее при перенесении в кислородные условия.

Образование аспарагина и глютамина в растениях только лишь в аэробных условиях указывает на сходство физиологической роли аспарагина и глютамина, с одной стороны, и мочевины, с другой. Это сходство становится еще более очевидным из того факта, что мочевина, образующаяся в грибах при недостатке углеводов, исчезает при подкормке гриба этими последними, например глюкозой или маннитом.

Второй путь образования мочевины является гидролитическим — она образуется в результате гидролитического расщепления аргинина под действием аргиназы; при этом, как известно (стр. 287), образуются мочевина и орнитин. Этот гидролитический способ образования мочевины доказан как для грибов, так и для высших растений. Так, например, установлено, что содержание аргинина, накапливающегося при прорастании семян бобовых растений и хвойных, по мере дальнейшего роста проростков постепенно понижается, и соответственно накапливается мочевина. Вместе с тем целым рядом исследований установлено наличие аргиназы в высших растениях, грибах и бактериях. Наличие аргиназы в растительных организмах и легкость, с которой мочевина образуется в них из аргинина, указывают на то, что в растениях, так же как и в животном организме, одним из путей образования мочевины является так называемый орнитиновый цикл Кребса. Согласно этому представлению, орнитин, присоединяя аммиак и углекислый газ, дает цитруллин. Этот последний далее образует аргинин, который под действием аргиназы расщепляется на мочевину и орнитин. Образовавшийся в результате действия аргиназы орнитин может снова быть вовлечен в указанную выше цепь реакций. Понятно, что эта цепь ферментативных реакций теснейшим образом связана с другими ферментативными превращениями белка и аминокислот в организме. Схема о р н и т и н о в о г о цикла представлена на стр. 510.

Синтез цитруллина из орнитина, аммиака и углекислого газа осуществляется в результате ряда ферментативных реакций. Первой из них является образование карбаминовой кислоты:

$$HO-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-OH + NH_3 \longrightarrow HO-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-NH_2 + H_2O$$

В синтезе карбаминовой кислоты у бактерий принимает участие глютаминовая кислота в виде своего N-ацетильного производного, а у грибов — глютамин. Карбаминовая кислота затем фосфорилируется под действием аденозинтрифосфата, причем образуется макроэргическое соединение — карбамоилфосфат:

$$H_2N-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-OH + АТФ \rightleftarrows H_2N-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-O\sim Ⓟ + АДФ$$

карбаминовая кислота *карбамоилфосфат*

Далее под действием фермента орнитин-карбамоилтрансферазы карбамоилфосфат реагирует с орнитином, в результате чего образуется цитруллин и свободная фосфорная кислота:

$$\text{карбамоилфосфат}\ \begin{array}{c} NH_2 \\ | \\ COO\sim Ⓟ \\ + \\ NH_2 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{орнитин} \end{array} \rightleftarrows \begin{array}{c} NH_2 \\ | \\ CO \\ | \\ NH \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{цитруллин} \end{array} + HO-Ⓟ$$

Следующий этап орнитинового цикла — образование аргинина из цитруллина — также слагается из нескольких этапов. Первый из них — взаимодействие цитруллина с аспарагиновой кислотой при участии АТФ и ионов магния. В результате выделяется вода и образуется аргининянтарная кислота. Эта последняя далее распадается с образованием аргинина и фумаровой кислоты:

$$\begin{array}{c} NH_2 \\ | \\ CO \\ | \\ NH \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{цитруллин} \end{array} + \begin{array}{c} COOH \\ | \\ H_2N\cdot CH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{аспарагиновая кислота} \end{array} \underset{+H_2O}{\overset{АТФ;\ Mg;\ -H_2O}{\rightleftarrows}} \begin{array}{ll} NH_2 & COOH \\ | & | \\ C=N & -CH \\ | & | \\ NH & CH_2 \\ | & | \\ (CH_2)_3 & COOH \\ | & \\ CH\cdot NH_2 & \\ | & \\ COOH & \\ \multicolumn{2}{c}{\text{аргининянтарная кислота}} \end{array} \rightleftarrows$$

$$\rightleftarrows \begin{array}{c} NH_2 \\ | \\ C=NH \\ | \\ NH \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{аргинин} \end{array} + \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH \\ \| \\ CH \\ | \\ COOH \\ \text{фумаровая кислота} \end{array}$$

Образование мочевины путем реакций орнитинового цикла доказано для плесневого гриба *Neurospora crassa* и для высших

растений. Так, при введении орнитина и карбамоилфосфата в кашицу из проростков злаков и бобовых растений наблюдается синтез цитруллина. При подкормке растений ячменя и клевера цитруллином в них накапливаются аргинин и следы мочевины, а при подкормке меченым аргинином наблюдается накопление меченого цитруллина (орнитин при этом не накапливается, так как он очень быстро превращается в цитруллин).

Таким образом, имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о существовании у растений реакций орнитинового цикла. Вместе с тем необходимо отметить, что в некоторых растениях — у ольхи, березы, орешника, у некоторых растений из семейства бурачниковых, накапливаются значительные количества цитруллина, который, по-видимому, играет у них роль важнейшего соединения, в виде которого связывается и обезвреживается избыток поступающего в ткани аммиака. В других растениях, например в хохлатках (*Corydalis*), содержатся заметные количества ацетильного производного орнитина — N-ацетилорнитина. Таким образом, разные растения могут значительно различаться по характеру продуктов азотистого обмена, накапливающихся в их тканях.

Одним из источников образования мочевины в растениях могут быть процессы, происходящие при диссимиляции нуклеопротеидов. При этом веществами, из которых непосредственно образуется мочевина, являются *аллантоиновая кислота* и *аллантоин*, представляющие собой конечные продукты диссимиляции нуклеиновых кислот, точнее, входящих в их состав пуриновых оснований. Мы уже указывали ранее, что конечным продуктом окислительного превращения гипоксантина и ксантина является мочевая кислота, которая превращается в аллантоин (стр. 309). В лаборатории К. Мотеса показано широкое распространение аллантоина в растениях. Так, например, установлено, что в некоторых грибах может содержаться до 460 *мг* аллантоина на 100 *г* сухого веса. Особенно значительные количества этого соединения найдены в проростках сои, в молодых побегах платана и клена, а также в коре каштана. Аллантоин является основным азотистым соединением, содержащимся в пасоке клена. Под действием фермента *аллантоиназы*, чрезвычайно широко распространенного в растительном мире, аллантоин превращается в аллантоиновую кислоту:

$$\begin{array}{lll} NH-CH-NH & & \\ | \quad\quad\;\; | \quad\quad\; | & & H_2N \cdot CO \cdot NH \diagdown \\ CO \quad\;\; | \quad\;\; CO & \xrightarrow[+H_2O]{\text{аллантоиназа}} & \qquad\qquad\qquad\quad CH-COOH \\ | \quad\quad\;\; | \quad\quad\; | & & H_2N \cdot CO \cdot NH \diagup \\ NH_2 \;\; CO-NH & & \\ \text{аллантоин} & & \text{аллантоиновая кислота} \end{array}$$

Особенно активная аллантоиназа содержится в семенах сои, откуда ее получают в виде препаратов, используемых для количественного определения аллантоина. Что касается аллантоиновой кисло-

ты, то она найдена в ряде растений, как, например, в созревающих бобах фасоли и в проростках сои. Образовавшаяся из аллантоина аллантоиновая кислота далее разлагается под действием фермента *аллантоиказы*, причем образуются мочевина и глиоксилевая кислота.

$$\begin{matrix} NH_2{-}CO{-}NH \\ NH_2{-}CO{-}NH \end{matrix}\!\!>\!CH{-}COOH \xrightarrow[+H_2O]{\text{аллантоиказа}}$$

аллантоиновая кислота

$$\rightarrow 2\ O{=}C\!\!<\!\begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix} + \begin{matrix} CH{=}O \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

мочевина   глиоксилевая кислота

Аллантоиказа найдена в прорастающих семенах сои и в плесневых грибах. Глиоксилевая кислота также широко распространена в растениях.

Таким образом, все приведенные выше данные свидетельствуют о том, что мочевина может образовываться в растительных организмах в результате ферментативных превращений, происходящих при диссимиляции нуклеопротеидов и входящих в их состав пуриновых оснований. Последовательность идущих при этом превращений и участие в них отдельных ферментативных систем могут быть представлены следующей схемой:

$$\text{нуклеопротеиды} \xrightarrow{\text{протеазы}} \text{нуклеиновые кислоты} \xrightarrow{\text{нуклеазы}} \text{нуклеотиды} \xrightarrow{\text{нуклеотидазы}}$$

$$\rightarrow \text{нуклеозиды} \xrightarrow{\text{нуклеозидазы}} \text{пуриновые основания (гипоксантин и ксантин)} \xrightarrow{\text{ксантиноксидаза}} \text{мочевая кислота} \xrightarrow{\text{уратоксидаза}}$$

$$\rightarrow \text{аллантоин} \xrightarrow{\text{аллантоиназа}} \text{аллантоиновая кислота} \xrightarrow{\text{аллантоиказа}} \text{мочевина.}$$

Таким образом, мы рассмотрели различные пути образования в растительном организме амидов — аспарагина, глютамина и мочевины, образующихся при диссимиляции белков и аминокислот.

Вторым весьма важным процессом, происходящим при диссимиляции аминокислот, является их декарбоксилирование. Мы уже описали ранее основные свойства декарбоксилаз аминокислот (стр. 300) и отмечали при этом, что процесс декарбоксилирования аминокислот, сопровождающийся образованием углекислого газа и различных физиологических весьма активных аминов, играет большую роль при гниении белков. Гнилостный распад белков под влиянием микроорганизмов приводит к образованию таких аминов, как образующийся из лизина кадаверин и из орнитина путресцин (см. стр. 300). Из триптофана при этом образуется индолэтиламин (триптамин), который, подвергаясь дальнейшим превращениям, дает индол и скатол — вещества, от которых в значительной степени зависит запах гниющего белка. Превращения триптофана с образованием индола и скатола представлены ниже.

Необходимо отметить, что продукты, образующиеся при декарбоксилировании аминокислот, могут играть не только роль отбро-

сов, возникающих в результате гниения белков, но также роль соединений, принимающих участие в обмене веществ. Они могут принимать в нем участие либо в качестве промежуточных продуктов при синтезе аминокислот и других азотистых соединений, либо в качестве стимуляторов роста некоторых микробов.

```
        CH              NH2
       //  \              |
     HC     C—C—CH2 · CH · COOH
     |      ‖  ‖
     HC     C   CH
       \\  / \ /
        CH  NH
        триптофан
```

декарбоксилирование ↓

```
        CH              NH2
       //  \              |
     HC     C—C—CH2 · CH2
     |      ‖  ‖
     HC     C  CH
       \\  / \ /
        CH  NH
```

индолэтиламин $+CO_2$

восстановление $+2H$ ⟶

```
                          CH
                        //  \
⟶CH3 · NH2 + HC     C—C—CH3
                     |      ‖  ‖
                     HC     C   CH
                       \\  / \ /
                        CH  NH
```

метиламин

скатол

↓

```
        CH
       //  \
     HC     C—CH
     |      ‖   ‖
     HC     C   CH
       \\  / \ /
        CH  NH
```

индол

Так, например, индол, образующийся при декарбоксилировании и дальнейшем превращении триптофана, может снова вовлекаться в синтетические реакции и являться исходным продуктом для синтеза триптофана:

$$\begin{array}{c} CH \\ HC \quad C{-}CH \\ HC \quad C \quad CH \\ CH \quad NH \\ \text{индол} \end{array} + \underset{\text{серин}}{CH_2OH \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH} \xrightarrow{-H_2O}$$

$$\longrightarrow \begin{array}{c} CH \\ HC \quad C{-}C{-}CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH \\ HC \quad C \quad CH \\ CH \quad NH \\ \text{триптофан} \end{array}$$

Подобный синтез триптофана из индола и серина катализируется ферментом, содержащимся в мицелии плесневого гриба *Neurospora crassa* и в высших растениях.

Необходимо отметить, что декарбоксилирование аминокислот может идти также таким образом, что в результате получается углекислый газ и новая аминокислота, которая используется в качестве строительного материала при синтезе белка. Такой случай мы имеем в описанном С. Р. Мардашевым декарбоксилировании аспарагиновой кислоты некоторыми бактериями, когда наряду с углекислым газом образуется α-аланин:

$$\underset{\text{аспарагиновая кислота}}{HOOC{-}\underset{NH_2}{\underset{|}{CH}}{-}CH_2{-}\boxed{COO}H} \rightarrow CO_2 + \underset{\alpha\text{-аланин}}{HOOC{-}\underset{NH_2}{\underset{|}{CH}}{-}CH_3}.$$

Клубеньковые бактерии, а также *Azotobacter* некоторые молочнокислые микробы и растения весьма интенсивно декарбоксилируют глютаминовую кислоту с образованием CO_2 и γ-аминомасляной кислоты:

$$HOOC \cdot CH(NH_2) \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH \rightarrow CO_2 + $$
$$+ CH_2 \cdot NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH.$$

Таким образом, в результате действия этого фермента так же, как и при декарбоксилировании аспарагиновой кислоты, образуется новая аминокислота.

Примером декарбоксилирования аминокислоты, сопровождающегося образованием стимулятора роста, является разложение той же аспарагиновой кислоты на углекислый газ и β-аланин, в ничтожных количествах чрезвычайно стимулирующий рост дрожжей. Эта реакция идет следующим образом:

$$\underset{\text{аспарагиновая кислота}}{HOOC \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH} \rightarrow CO_2 + \underset{\beta\text{-аланин}}{HOOC \cdot CH_2CH_2 \cdot NH_2}.$$

Подобного рода декарбоксилирование аспарагиновой кислоты — так сказать, с другого ее конца — осуществляется клубеньковыми бактериями.

Декарбоксилирование аминокислот играет, по-видимому, важную роль в обмене веществ у грибов и высших растений. Амины, образующиеся в результате декарбоксилирования, найдены во многих растениях. Так, например, путресцин и кадаверин найдены в рожках спорыньи, боровиках, мухоморах, белене, белладонне и дурмане; в этиолированных проростках сои найден кадаверин, в спорынье и побегах омелы — тирамин, в спорынье, дрожжевом экстракте, в томатах и шпинате — гистамин.

Во многих цветах содержится изоамиламин $\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} \rangle CH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2$, образующийся при декарбоксилировании лейцина, и изобутиламин $\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} \rangle CH \cdot CH_2 \cdot NH_2$, получающийся в результате декарбоксилирования валина.

Интересно, что путресцин накапливается в листьях ячменя и других растений при калийном голодании, а также при хлоридном отравлении.

Все эти факты указывают на то, что в растениях существуют весьма активные декарбоксилазы аминокислот. Однако экспериментальные данные об этих ферментах высших растений скудны.

При культивировании растений в стерильных условиях на средах, содержавших гистидин и диоксифенилаланин, было установлено образование в тканях растений соответствующих аминов — гистамина и окситирамина. Таким образом были получены косвенные доказательства наличия в растениях декарбоксилаз аминокислот.

Единственным хорошо изученным ферментом этой группы, найденным в высших растениях, является декарбоксилаза глютаминовой кислоты (глютаматдекарбоксилаза), содержащаяся в моркови, кабачках, редьке, тыкве, шпинате, капусте, перце, прорастающих семенах, зародышах пшеницы. Чрезвычайно активная глютаматдекарбоксилаза содержится в одноклеточной водоросли *Chlorella.* У этой водоросли легко происходит как декарбоксилирование глютаминовой кислоты с образованием CO_2 и γ-аминомасляной кислоты, так и обратный процесс синтеза глютаминовой кислоты из продуктов ее декарбоксилирования.

По-видимому, этот же фермент катализирует также декарбоксилирование γ-метиленглютаминовой кислоты.

Особенно активна глютаматдекарбоксилаза в тыкве, откуда ее можно получать в виде препарата, используемого при количественном определении глютаминовой кислоты. Детальное исследование свойств глютаматдекарбоксилазы высших растений показало, что ее активная группа, так же как и в декарбоксилазах аминокислот у бактерий, представляет собой пиридоксальфосфат.

Таким образом, такой важный этап диссимиляции аминокислот, каким является их декарбоксилирование, осуществляется в растительном организме при обязательном участии производного витамина B_6 в составе активной группы соответствующих ферментов.

Амины, образующиеся при декарбоксилировании аминокислот, могут снова вовлекаться в обмен веществ и использоваться в качестве строительного материала при синтезах различных азотистых соединений.

Особенно легко эти амины используются растением для синтеза алкалоидов. Так, например, К. Шёпфом, установлено, что при условиях, весьма близких к условиям, имеющим место в тканях растений (например, при 20—25°C и pH от 4 до 7), в водном растворе янтарного диальдегида, метиламина и ацетондикарбоновой кислоты очень легко синтезируется тропинон, который при восстановлении дает тропин — вещество, являющееся основой строения атропина, принадлежащего к группе пирролидиновых алкалоидов.

ацетоидикарбоноаая кислота

HOOC CO COOH

CH_2 CH_2

+

HNH

метиламии | CH_3

+

OCH HCO

CH_2—CH_2

янтарный диальдегид

$\xrightarrow[-2CO_2]{-2H_2O}$

$$
\underset{\text{тропинон}}{\mathrm{C_8H_{13}NO}}\ \xrightarrow{+2H}\ \underset{\text{тропин}}{\mathrm{C_8H_{15}NO}}
$$

(тропинон: O=C< с мостиком H_2C, CH_2; HC—N(CH_3)—CH; CH_2—CH_2 → тропин: H, OH при C; H_2C, CH_2; HC—N(CH_3)—CH; CH_2—CH_2)

При таких же точно условиях, весьма близких к условиям, имеющимся в организме растения, взаимодействие глютарового диальдегида, метиламина и двух молекул бензоилуксусной кислоты приводит к синтезу лобелаиина, принадлежащего к группе пиридиновых алкалоидов:

бензоилуксусная кислота

$$
C_6H_5{-}CO{-}\underset{HOOC}{CH_2}+\underset{COOH}{H_2C}{-}CO{-}C_6H_5
$$

$$
+\ \underset{\text{метиламин}}{HNH{-}CH_3}\ \xrightarrow[-2CO_2]{-2H_2O}
$$

$$
+\ \underset{\text{глютаровый диальдегид}}{OCH{-}H_2C{-}CH_2{-}CH_2{-}HCO}
$$

$$
\longrightarrow C_6H_5{-}CO{-}CH_2{-}HC\ \overset{CH_3}{N}\ CH{-}CH_2{-}CO{-}C_6H_5
$$

(кольцо: HC—N—CH, H_2C, CH_2, CH_2)

лобеланин

По-видимому, из аминов, подобных путресцину и кадаверину, могут также образоваться алкалоиды путем выделения аммиака и образования при этом соответствующего азотистого гетероцикла. Так, например, можно представить себе образование пирролидинового цикла при дезаминировании путресцина:

$$
\underset{\text{путресцин}}{H_2C(NH_2){-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2(NH_2)} \longrightarrow NH_3 + \underset{\text{пирролидин}}{(H_2C{-}CH_2{-}CH_2{-}H_2C)NH}
$$

Точно так же при дезаминировании кадаверина образуется пиперидиновый цикл:

$$\begin{array}{c} CH_2 \\ H_2C \quad CH_2 \\ | \qquad | \\ H_2C \quad CH_2 \\ | \qquad | \\ H_2N \quad NH_2 \\ \text{кадаверин} \end{array} \longrightarrow NH_3 + \begin{array}{c} CH_2 \\ H_2C \quad CH_2 \\ | \qquad | \\ H_2C \quad CH_2 \\ \diagdown \diagup \\ NH \\ \text{пиперидин} \end{array}$$

Амины, образующиеся при декарбоксилировании аминокислот, могут также подвергаться дальнейшему окислению, отщепляя при этом аммиак и образуя соответствующий альдегид. Так, например, в растениях конопли и шалфея найдена моноаминооксидаза, окисляющая амины до альдегидов; этот фермент наиболее энергично окисляет монобутиламин, слабее тирамин и очень слабо триптамин. Точно так же в корнях белладонны, прорастающих семенах гороха, сои, клевера и люцерны найдена диаминоксидаза, окисляющая кадаверин и путресцин с образованием альдегидов и аммиака. По-видимому, окисление путресцина может идти двумя путями:

$$\underset{\text{путресцин}}{\overset{NH_2}{\underset{|}{}}CH_2-CH_2-CH_2-\overset{NH_2}{\underset{|}{}}CH_2} + O_2 \rightarrow 2NH_3 + \underset{\text{янтарный диальдегид}}{HOC-CH_2-CH_2-COH}$$

либо

$$\underset{\text{путресцин}}{\overset{NH_2}{\underset{|}{}}CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot \overset{NH_2}{\underset{|}{}}CH_2} + {}^1/_2O_2 \rightarrow NH_3 + \underset{\text{аминомасляный альдегид}}{HOC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2}$$

Янтарный диальдегид и аминомасляный альдегид могут снова вступать во взаимодействие с другими аминами и карбонильными соединениями, образуя алкалоиды, как это, например, показано в схеме, приведенной на стр. 518, иллюстрирующей образование тропинона и тропина.

Участие аминооксидазы в синтезе пирролидиновых и пиперидиновых алкалоидов показано с помощью препарата аминооксидазы, выделенного из семядолей прорастающего гороха. При действии этого фермента на путресцин и кадаверин в присутствии ацетоуксусной кислоты происходит конденсация этой последней с продуктами окисления аминов и образование соответствующих алкалоидов. Из путресцина при этом образуется пирролидиновый алкалоид норгигрин, а из кадаверина — пиперидиновый алкалоид изопеллетьерин. Вероятная схема синтеза норгигрина имеет следующий вид:

$$H_2N{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}NH_2 \xrightarrow{-2H} H_2N{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH{=}NH \overset{+\frac{1}{2}O_2}{\underset{+2H}{\dashrightarrow}} H_2N{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH{=}O + NH_3$$

путресцин; аминомасляный альдегид

$$\text{(циклизация)} \rightarrow \begin{matrix} H_2C{-}{-}CH_2 \\ | \quad\quad | \\ H_2C \quad CH \\ \diagdown \; /\!\!/ \\ N \end{matrix}$$

$$\begin{matrix} H_2C{-}{-}CH_2 \\ | \quad\quad | \\ H_2C \quad CH \\ \diagdown \; /\!\!/ \\ N \end{matrix} + HOOC\cdot CH_2\cdot CO\cdot CH_3 \rightarrow \begin{matrix} H_2C{-}{-}CH_2 \\ | \quad\quad | \\ H_2C \quad CH\cdot CH_2\cdot CO\cdot CH_3 \\ \diagdown \; /\!\!/ \\ N \end{matrix} + CO_2$$

ацетоуксусная кислота; норгигрин

Таким образом, приведенные выше данные об участии аминов, образующихся при декарбоксилировании аминокислот, а также продуктов окисления этих аминов в биосинтезе алкалоидов, ясно свидетельствуют о чрезвычайно тесной связи между обменом белков и аминокислот, с одной стороны, и образованием алкалоидов в растении, с другой (см. также стр. 224).

Одним из путей дальнейшего превращения аминов в растениях является их м е т и л и р о в а н и е. Этот процесс осуществляется благодаря каталитическому действию ферментов, рассмотренных нами ранее (стр. 326), получивших название метилтрансфераз. Примером подобного метилирования амина является образование содержащегося в ячменном солоде алкалоида горденина. Он образуется при метилировании тирамина, получающегося, как мы уже указывали ранее, в результате декарбоксилирования тирозина:

$$HO{-}C_6H_4{-}CH_2{-}CHNH_2\cdot COOH \xrightarrow{-CO_2} HO{-}C_6H_4{-}CH_2{-}CH_2\cdot NH_2 \longrightarrow$$

тирозин; тирамин

$$\longrightarrow \quad \text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$$

горденин

Аналогичным образом, также при участии метилтрансфераз, происходит образование никотина в табаке.

Опыты, проведенные с помощью метода меченых атомов, показали, что источником метильных групп, необходимых для синтеза горденина и никотина, является метионин.

Холин, играющий чрезвычайно важную роль в обмене веществ, также образуется в результате реакции ферментативного метилирования аминоэтилового спирта (коламина). Этот последний широко распространен в растительных организмах, являясь составной частью некоторых фосфатидов (кефалинов) и встречаясь также в свободном виде (например, в прорастающей пшенице). Коламин, по-видимому, образуется при декарбоксилировании серина. Таким образом, взаимные превращения серина, коламина и холина мы можем представить себе в виде следующей схемы:

$$\underset{\text{серин}}{HO \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH} \xrightarrow{-CO_2} \underset{\text{коламин}}{HO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2} \xrightarrow{+3CH_3OH}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{холин}}{(CH_3)_3 \cdot \underset{\displaystyle OH}{\overset{|}{N}} \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH} + 2H_2O.$$

Вместе с тем необходимо указать на то, что холин может образовываться в растениях вследствие гидролитического расщепления лецитинов, в состав которых он входит. На это указывают наблюдения, сделанные при исследовании прорастающих семян — содержание в них лецитина понижается, а содержание холина соответственно увеличивается. Холин найден во всех растительных организмах, в том числе в злаках, семенах бобовых растений, хмеле, солоде, винограде; особенно велико его содержание в сахарной свекле, в свекольном соке и в мелассе. Холин является одной из составных частей того комплекса веществ сахарной свеклы, которые мешают кристаллизации сахара и которые поэтому объединяются под названием «вредный азот». Мы уже указывали ранее, что холин играет важную роль в обмене веществ как составная часть фосфатидов, как источник метильных групп при реакции ферментатив-

ного метилирования (стр. 327), наконец, как вещество, играющее в животном организме роль витамина.

Метилированию могут подвергаться не только амины, являющиеся продуктами диссимиляции аминокислот, но и сами аминокислоты. Образующиеся при этом соединения получили название *бетаинов*. Типичным представителем этой группы азотистых соединений является *гликоколбетаин*, впервые выделенный из сахарной свеклы (*Beta vulgaris*) и отсюда получивший свое название. Он образуется путем метилирования азота в гликоколе; при этом азот из трехвалентного превращается в четырехвалентный ион азота:

$$\underset{\text{гликокол}}{H_2N \cdot CH_2 \cdot COOH} \xrightarrow{+3CH_3OH} (CH_3)_3 \cdot \underset{\underset{OH}{|}}{N} \cdot CH_2 \cdot COOH + 2H_2O \xrightarrow{-H_2O}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{бетаин}}{(CH_3)_3N^+ \cdot CH_2 \cdot COO^-}.$$

Бетаин найден в очень большом числе растений: в пшенице, ячмене, пшеничных зародышах, солоде, вике, листьях табака, в семенах подсолнечника. Особенно большое количество бетаина содержится в сахарной свекле; так, например, в корнях сахарной свеклы может содержаться 0,6% бетаина, а в старых листьях — до 3% в пересчете на сухое вещество. Бетаин, так же как и холин, аспарагин и глютамин, относится к веществам, затрудняющим кристаллизацию сахара («вредный азот»).

Из бетаина может образовываться триметиламин $(CH_3)_3N$, который содержится в гниющих пищевых продуктах и от наличия которого зависит «селедочный» запах головни и пораженного головней зерна.

Вторым примером бетаина может служить *стахидрин* — вещество, образующееся при метилировании азота в пролине:

$$\underset{\text{пролин}}{\begin{array}{c} H_2C\text{—}CH_2 \\ | \quad\quad | \\ H_2C \quad CH \cdot COOH \\ \diagdown \; \diagup \\ NH \end{array}} \xrightarrow{+2CH_3OH} \underset{\text{стахидрин}}{\begin{array}{c} H_2C\text{—}CH_2 \\ | \quad\quad | \\ H_2C \quad CH \cdot CO \cdot O^- \\ \diagdown \; \diagup \\ \overset{+}{N} \\ \diagup \; \diagdown \\ H_3C \quad CH_3 \end{array}}$$

Стахидрин найден во многих растениях, в том числе в листьях лимонных и апельсинных деревьев.

Мы уже неоднократно указывали, что белковый и аминокислотный обмен теснейшим образом связан также с обменом витаминов,

поскольку некоторые из них или их производных являются составной частью активных групп ферментов, катализирующих превращения аминокислот. Таковы аминотрансферазы и декарбоксилазы аминокислот, активные группы которых содержат пиридоксальфосфат (фосфорилированное производное витамина B_6); таковы также никотиновая кислота и амид никотиновой кислоты, входящие в состав активной группы пиридиновых дегидрогеназ, участвующих в синтезе аминокислот при восстановительном аминировании кетокислот аммиаком. Однако тесная связь между обменом аминокислот и витаминов проявляется также в том, что некоторые витамины могут образовываться из аминокислот. Так, например, никотиновая кислота может образоваться в результате превращений триптофана.

При изучении условий возникновения пеллагры — авитаминоза, обусловленного отсутствием в пище никотиновой кислоты, было установлено, что имеется тесная связь между обменом этой последней в животном организме и обменом триптофана. Оказалось, что никотиновая кислота, предохраняющая и излечивающая животное от заболевания пеллагрой, может быть заменена триптофаном. Отсюда было сделано заключение о том, что триптофан является веществом, из которого образуется никотиновая кислота. По-видимому, превращение триптофана в никотиновую кислоту происходит через стадии окситриптофана, кинуренина (продукта, образующегося в результате разрыва азотистого кольца в молекуле триптофана) и оксиантраниловой кислоты:

CH NH$_2$
HC C—C · CH$_2$ · CH · COOH →
HC C CH
CH NH

триптофан

CH NH$_2$
HC C—C · CH$_2$CH · COOH
→ HC C C—OH →
CH NH

α-окситриптофан

$$\longrightarrow \quad \begin{array}{c} CH \\ HC \quad C\cdot CO\cdot CH_2\cdot CH(NH_2)\cdot COOH \\ HC \quad C\cdot NH_2 \\ CH \end{array} \quad \longrightarrow$$

кинуренин

$$\longrightarrow \quad \begin{array}{c} CH \\ HC \quad C\cdot COOH \\ HC \quad C\cdot NH_2 \\ C \\ OH \end{array} \quad \longrightarrow \quad \begin{array}{c} CH \\ HC \quad C\cdot COOH \\ HC \quad CH \\ N \end{array}$$

оксиантраниловая кислота

никотиновая кислота

Подобного рода ферментативные превращения триптофана доказаны для животных и для плесневого гриба *Neurospora*. Что касается высших растений, то вопрос о способе образования в них никотиновой кислоты и применимости к ним приведенной выше схемы пока еще не может считаться разрешенным. Опыты со стерильными культурами зародышей кукурузы и других растений, получавших триптофан в качестве источника азотистого питания, дали разноречивые результаты в смысле накопления никотиновой кислоты.

Связь между обменом белков и аминокислот, с одной стороны, и обменом витаминов, с другой, проявляется также в том, что витамины могут служить исходными веществами для синтеза некоторых азотистых соединений, играющих у растений существенную роль в азотистом обмене. Так, например, никотиновая кислота, подвергаясь в организме метилированию, дает соответствующий бетаин, получивший название *тригонеллина*.

$$\begin{array}{c} CH \\ HC \quad C\cdot COOH \\ HC \quad CH \\ N \end{array} \quad \longrightarrow \quad \begin{array}{c} CH \\ HC \quad C\cdot CO\cdot O^- \\ HC \quad CH \\ N^+ \\ CH_3 \end{array}$$

никотиновая кислота

тригонеллин

Тригонеллин найден в самых разнообразных растениях.

Говоря о теснейшей взаимосвязи, имеющейся между белковым и аминокислотным обменом и другими сторонами обмена веществ в организме, нельзя не отметить того, что некоторые стимуляторы роста растений образуются в результате превращений аминокислот. Так, например, доказано, что при вакуум-инфильтрации триптофана в листья шпината очень сильно возрастает содержание в них стимуляторов роста. То же самое наблюдается при воздействии на триптофан экстрактов из листьев. При этом происходит образование промежуточных соединений, содержащих карбонильную группу. По всей вероятности, в конечном счете из триптофана образуется β-индолилуксусная кислота, причем промежуточные стадии этого процесса следующие:

C_8H_6N—C—$CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$

триптофан

$\xrightarrow[+\frac{1}{2}O_2]{\text{дезаминирование}} NH_3 +$

$+\ C_8H_6N$—C · $CH_2 \cdot CO \cdot COOH$

индолилпировиноградная кислота

$\xrightarrow[-CO_2]{\text{декарбоксилирование}}$

$\longrightarrow C_8H_6N$—C—$CH_2 \cdot COH$

индолилуксусный альдегид

$\xrightarrow[\text{окисление}]{+\frac{1}{2}O_2}$

$\longrightarrow C_8H_6N$—C—$CH_2 \cdot COOH$

β-индолилуксусная кислота

Мы рассмотрели, таким образом, основные типы биохимических процессов, лежащих в основе ассимиляции азотистых соединений и синтеза белка, а также диссимиляции белка и аминокислот в растительном организме.

Необходимо подчеркнуть, что содержащийся в организме белок, являющийся основным субстратом жизни, находится в постоянном и непрерывном взаимодействии как с другими веществами, входящими в состав данного организма, так и с веществами окружающей его среды. На это постоянное взаимодействие белка с другими веществами организма и внешней средой указывал в свое время Фридрих Энгельс. Эту же мысль о постоянном обновлении белков организма путем взаимодействия их с внешней средой, путем ассимиляции и диссимиляции, развивал также один из основоположников биохимии профессор Харьковского университета А. Я. Данилевский. Новейшие данные биохимии, полученные с помощью метода меченых атомов, полностью подтвердили идею, высказанную в свое время Энгельсом. Так, например, опытами Р. Шенгеймера, Г. Виккери и др. установлено, что в растениях подсолнечника и гречихи, поглощавших через корневую систему в качестве источника азота сернокислый аммоний, содержавший изотопный азот N^{15}, чрезвычайно быстро происходит «обновление» белков и замена в них обычного азота N^{14} изотопом N^{15}. Это взаимодействие содержащегося в тканях белка с поступающими в растение через корневую систему мечеными ионами аммония начинается почти немедленно после того, как растения помещены в питательную среду, содержащую меченый азот. Обновление азота происходит не только после расщепления белка до аминокислот, но и непосредственно в самом белке, по его пептидным связям. Так, например, за 12 часов, прошедших после помещения растений в питательную среду с изотопным азотом, обновилось 6% содержащегося в белках азота. Подобные опыты с мечеными атомами показали, таким образом, что содержащийся в тканях белок подвергается непрерывному взаимодействию с поступающими в организм из внешней среды питательными веществами, постоянно подвергаясь распаду и одновременно протекающему обновлению. Опыты с мечеными атомами показали, что особенно интенсивный процесс обновления белков происхо-

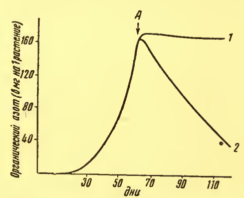


Рис. 87. Изменение содержания органического азота в растении пшеницы:

1 — целое растение, *2* — вегетативные части, *А* — начало выхода в трубку

дит в молодых растущих тканях растений, богатых нуклеопротеидами. Вместе с тем с полной определенностью установлена тесная связь между интенсивностью синтеза белка в тканях и дыханием. Особенно убедительные наблюдения в этом направлении были сделаны В. К. Залесским на прорастающих луковицах. За последнее время тесная взаимосвязь между интенсивностью синтеза белка и энергией дыхания ткани была показана также для картофельных клубней, листьев ячменя, различных плодов.

В заключение необходимо подчеркнуть еще одно важное обстоятельство — теснейшую взаимосвязь обмена веществ, и в частности белкового обмена, у различных тканей и органов растения. При прорастании семени она проявляется в том, что эндосперм или семядоли служат источником белкового питания для прорастающего зародыша — в них происходит гидролитический и окислительный распад белков, образование аминокислот и амидов, которые затем поступают в росток и служат в нем исходным материалом для синтеза белков протоплазмы. Когда росток достаточно разовьется и начнет на свету ассимилировать углекислый газ, главными местами новообразования аминокислот и белков становятся лист и корень. По мере развития растения, сопровождающегося образованием цветов и плодов, начинается перетекание аминокислот и белков из листьев к соцветиям и плодам. Этот процесс хорошо иллюстрирует-ся рис. 87, на котором представлено изменение содержания органического азота в растениях пшеницы и отдельно в вегетативных частях растений. Видно, что со времени выхода в трубку начинается неуклонное снижение содержания органического азота в вегетативных частях растений, что объясняется его перетеканием из листьев и стеблей в развивающиеся колосья.

ЛИТЕРАТУРА

Бах А. Н. О механизме восстановления азотнокислых солей и образования азотистых соединений в растениях. Собрание трудов по химии и биохимии, стр. 196, 1950.

Благовещенский А. В. Биохимия обмена азотсодержащих веществ у растений. Изд. АН СССР, М., 1958.

Браунштейн А. Е. Представления Ф. Энгельса о белке как основе жизни в свете данных современной биохимии. «Успехи биологической химии», т. 1, стр. 21. Изд. АМН СССР, М., 1950.

Браунштейн А. Е. Биохимия аминокислотного обмена. Изд. АМН СССР, М., 1949.

Браунштейн А. Е. Некоторые черты химической интеграции процессов азотистого обмена. «Вестник Акад. мед. наук СССР», № 5, стр. 45, 1959.

Буткевич В. С. Регрессивный метаморфоз белковых веществ в высших растениях и участие в нем протеолитического фермента. М., 1904.

Вебстер Г. и Уитман С. Л. Структура и функция рибосом. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум II «Функциональная биохимия клеточных структур», стр. 34. Изд. АН СССР, М., 1962.

Залесский В. К. Превращения и роль соединений фосфора в растениях. Харьков, 1912.

Иванов Н. Н. Образование и превращение мочевины в грибах. Физиолого-химическое экспериментальное исследование. Материалы по микологии и фитопатологии, год 7-й, вып. 1, 1928.
Кизель А. Р. Аргинин и его превращение в растениях. М., 1916.
Кизель А. Р. О нахождении аспарагиновой кислоты и фенилаланина в колосьях созревающей ржи. Сб. им. С. Г. Навашина. Государственный Тимирязевский научно-исследовательский ин-т, стр. 51, 1928.
Кретович В. Л. Биохимия автотрофной ассимиляции азота. Изд. АН СССР, М., 1961.
Кретович В. Л. Биохимия автотрофной ассимиляции азота у растений, «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 5, стр. 668, 1962.
Кретович В. Л. Значение работ Д. Н. Прянишникова для развития биологической химии. «Ж. общ. биол.», т. 17, № 3, стр. 161, 1956
Кретович В. Л. Биосинтез дикарбоновых аминокислот и ферментативные превращения амидов в растениях. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 2, стр. 129, 1958.
Липман Ф. Проблемы синтеза белка. Труды V Международного биохимического конгресса. Симпозиум 1 «Биологические структуры и функции на молекулярном уровне», стр. 147, Изд. АН СССР, М., 1962.
Медведев Ж. А. Современные представления о процессах синтеза белка в растениях. «Изв. Тимирязевск. с.-х. акад.», 2 (27), стр.57, 1959.
Мейстер А. Биохимия аминокислот. ИЛ, М., 1961.
Опарин А. И. К вопросу о регрессивном метаморфозе белков в прорастающих семенах. «Изв. Росс. акад. наук», 6-я сер., т. 16, стр. 525, 1922.
Опарин А. И. К вопросу об окислительных процессах в живой клетке. «Ж. эксперим. биол. и мед.», № 15, стр. 246, 1927.
Опарин А. И. и Гельман Н. С. Образование пуриновых оснований при прорастании семян пшеницы. «Докл. АН СССР», т. 54, № 1, стр. 43, 1946.
Прянишников Д. Н. Аммиак как альфа и омега обмена азотистых веществ в растении. Сб. статей, посв. К. А. Тимирязеву его учениками в ознаменование 70-го дня его рождения. М., 1914.
Прянишников Д. Н. Азот в жизни растений и в земледелии СССР Изд. АН СССР, М., 1945.
Сисакян Н. М., Безингер Э. Н., Марчукайтис А. С. Молчанов М. И., Чигирев В. С., Котовская А. П. Участие липидов в синтезе белка. «Биохимия», т. 28, № 2, 1963
Сисакян Н. М. и Филиппович И. И. Синтез белка в изолированных структурах растительной клетки. «Биохимия», т. 22, вып. 1—2, стр. 375, 1957.
Сисакян Н. М., Филиппович И. И., и Светайло Э. Н. Участие рибосом хлоропластов в синтезе белка. «Докл. АН СССР», т. 147, стр. 488, 1962.
Спирин А. С. и др. Некоторые проблемы биосинтеза белков. «Успехи биологической химии», т. 5, 3, 1963.
Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Сельхозгиз, М., 1952.
Фердман Д. Л. О процессах образования и устранения аммиака в животном организме. «Успехи биологической химии», т. 1, стр. 216, Изд. АМН СССР, М., 1950.
Baddiley J. a. Neuhaus F. C. The Enzymic Activation of D-Alanine. «Biochem. J.», 75, 579, 1960.
Birnstiel M. L., Chipchase M. I. H. a. Hayes R. J. Incorporation of L-(C^{14})-Leucine by Isolated Nuclei. «Biochim. et biophys. acta», 55, 728, 1962.
Blaim K., Studia nad procesami biochemicznymi i znaczeniem fizjologicznym trygoneliny. «Roczn. nauk roln», 85-A-2, 307, 1962.
Carnahan J. E., Mortenson L. E., Mower H. F. a. Cas-

tle J. E. Nitrogen Fixation in Cell-Free Extracts of *Clostridium pasteurianum*. «Biochim. et biophys. acta», 44, 520, 1960.
Colloque sur la biochimie du soufre. Roscoff. Colloques internationaux du Centre national de la recherche scientifique. Paris, 1956.
Egami F., Biochemistry of Nitrate Reduction. «Svensk Kemisk Tidskrift» 69, No 12, 562, 1957.
Fogg G. E., Nitrogen Fixation by Photosynthetic Organisms, «Annual Rev. Plant Physiol.», 7, 51, 1956.
Fry B. A., The Nitrogen Metabolism of Micro-Organisms, Methuen a. C°, London, 1955.
Guggenheim M. Die biogenen Amine. Verlag S. Karger, Basel, 1951.
Handbuch der Pflanzenphysiologie. Herausgegeben von W. Ruhland, Band 8, der Stickstoffumsatz, J. Springer V-g, 1958.
Hurvitz J. a. Furth J. J. Messenger RNA. «Scientific American», 206, N 2, 41, 1962.
Inorganic Nitrogen Metabolism. Function of Metallo-Flavoproteins». A symposium. Edited by W. D. Mc Elroy and B. Glass, The John Hopkins Press, Baltimore, 1956.
Kleczkowski K. Występowanie cyklu ornitynowego u roslin. «Postępy biochem.», 7, No I, 71, 1960.
De Kloet S. R., Van Wermeskerken R. K. A. a. Koningsberger V. V., Studies on Protein Synthesis by Protoplasts of *Saccharomyces Carlsbergensis*. 1. The Effect of Ribonuclease on Protein Synthesis. «Biochim. et biophys. acta», 47, 138, 1961.
Kornberg A., Enzymatic synthesis of DNA. CIBA Lectures in Microbial Biochemistry, J. Wiley, New-York-London, 1961.
Koukol J. a. Conn E. Purification and Properties of the Phenylalanine Deaminase of *Hordeum vulgare*. «J. Biol. Chem.», 236, 2692, 1961.
Loening U. E., Messenger Ribonucleic Acid in Pea Seedings. «Nature», 195, 467, 1962.
Mans R. J. a. Novelli G. D. *In vitro* Amino Acid Incorporation into Particle Protein from Maize Seedlings. «Biochim. et biophys. acta», 50, 287, 1961.
Mc Kee H. S. Nitrogen Metabolism in Plants. Clarendon Press, Oxford, 1962.
Mothes K. Ammoniak-Entgiftung und Aminogruppen-Vorrat. Die Kulturpflanze, Beiheft 1, Biochemie der Kulturpflanzen, 103, 1956.
Mothes K. a. Engelbrecht L. Kinetin-Induced Directed Transport of Substances in Excised Leaves in the Dark. «Phytochemistry», 1, 58, 1961.
Mothes K., Engelbrecht L. und Schütte H. R. Über den Akkumulation von α-Aminoisobuttersäure im Blattgewebe unter dem Einfluss von Kinetin. «Physiol. Plantarum», 14, 72, 1961.
Nicolas D. J. D., Silvester D. J. a. Fowler J. F. Use of Radioactive Nitrogen in Studying Nitrogen Fixation in Bacterial Cells and their Extracts. «Nature», 189, 634, 1961.
Nirenberg M. W. a. Matthaei J. H. The Dependence of Cell Free Protein Synthesis in *E. coli* upon Naturally Occuring or Syntetic Polynucleotides. «Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.», 47, 1588, 1961.
Ochoa S., Die enzymatische Synthese von Ribonucleinsäure (RNS). «Angew. Chemie», 72, 225, 1960.
Ochoa S. a. coll. Synthetic Polynucleotides and the Amino Acid Code. «Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.», 48, 63, 282, 441, 1962.
Reinbothe H. Zur Frage der Biosynthese von Allantoin und Allantoinsäure in höheren Pflanzen. «Flora», 150, 128, 1961.
Sinsheimer R. Single-Stranded DNA. «Scientific American», 207, 109, July 1962.
Steward F. C. a. Pollard J. K. Nitrogen Metabolism in Plants. «Annual Rev. Plant Physiol.», 8, 65, 1957.

«Utilization of Nitrogen and its Compounds by Plants», Symposia of the Society for experimental Biology, No. XIII, Cambridge: At the University Press, 1959.
Virtanen A. Neue Amino- und Ketosäuren in grünen Pflanzen und die Biosynthese der Aminosäuren, «Angew. Chemie», 67, Nr 14/15, 381, 1955.
Webster G. Nitrogen Metabolism in Plants. Row, Peterson and C°, Evanston, Illinois, 1959.
Wollgiehn R. Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Nukleinsäure-und Eiweissstoffwechsel in grünen Blättern. «Flora», 150, 117, 1961.

Глава XIV

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОЦЕССОВ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ ВНЕШНЯЯ СРЕДА И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

«Отдельное не существует иначе как в той связи, которая ведет к общему. Общее существует лишь в отдельном, через отдельное».

В. И. Ленин

Мы уже неоднократно подчеркивали, что отдельные процессы обмена веществ в организме, отдельные стороны обмена веществ — обмен белков, углеводов, жиров, витаминов, минеральных соединений и т. д. теснейшим образом связаны друг с другом. Существование организма немыслимо без этого теснейшего взаимодействия, без этой теснейшей взаимосвязи отдельных сторон обмена веществ. Огромное количество биохимических реакций, совершающихся в организме во время ассимиляции и диссимиляции, теснейшим образом связаны друг с другом и направлены на самообновление и самосохранение организма в целом.

Вместе с тем из всего предыдущего изложения очевидно, что в обмене веществ организма ведущая роль принадлежит белковым соединениям. Это положение, столь четко сформулированное Фридрихом Энгельсом, в настоящее время подтверждается всем огромным экспериментальным материалом, добытым биохимией. Белковые вещества и в том числе нуклеопротеиды не только составляют основу всех протоплазменных структур в организме, но, будучи наделены каталитическими функциями и являясь составной частью ферментов, они определяют скорость, направление и теснейшую сопряженность отдельных реакций обмена веществ.

Ведущая роль белка в явлениях жизни связана с исключительным богатством и многообразием его химических функций, с исключительной способностью его к различным превращениям и к взаимодействию с другими простыми и сложными веществами, входящими

в состав протоплазмы. Именно благодаря этим огромным химическим возможностям белков «они стоят в центре обмена веществ, в течение всей жизни протоплазмы сами подвергаясь разнообразным химическим изменениям и превращениям и вовлекая в этот круговорот и другие составные части живой материи»[1].

Взаимосвязь и сопряженность различных сторон обмена веществ в организме растения может быть проиллюстрирована многочисленными примерами, из которых мы приведем лишь некоторые.

Рассмотрим вопрос о теснейшей связи процесса дыхания с превращениями белковых веществ и аминокислот. Как мы уже указывали ранее, целый ряд работ, проведенных с помощью меченых атомов, в частности с помощью изотопного азота N^{15}, показал, что белок протоплазмы находится в состоянии непрерывного изменения и обновления, в состоянии одновременно протекающего синтеза и распада, ассимиляции и диссимиляции. Реакции, лежащие в основе участия белка и аминокислот в окислительно-восстановительных процессах, происходящих в организме, мы можем представить себе следующим образом.

Аминокислоты могут подвергаться, прежде всего, декарбоксилированию под влиянием соответствующих ферментов. В результате из аминокислоты образуется углекислый газ и тот или иной амин.

С другой стороны, аминокислоты могут подвергаться в организме окислительному дезаминированию с образованием аммиака и кетокислот. Аммиак, освобождающийся в результате дезаминирования аминокислот, вступает во взаимодействие с различными кетокислотами, образуя новые аминокислоты, используемые, в свою очередь, на синтез белка. Кетокислоты, образовавшиеся при дезаминировании аминокислот, подвергаясь декарбоксилированию под действием соответствующих декарбоксилаз, образуют CO_2.

Особенно интенсивному окислительному распаду подвергаются в растительных тканях дикарбоновые аминокислоты — аспарагиновая и глютаминовая. Так, например, наши опыты показали, что глютаминовая и аспарагиновая кислоты во много раз интенсивнее стимулируют дыхательный газообмен суспензий, полученных из растертых проростков злаков и гороха, чем другие аминокислоты. Аналогичные результаты были получены при исследовании влияния аминокислот на интенсивность дыхания ломтиков картофеля.

Подобный, весьма интенсивный окислительный распад дикарбоновых аминокислот, происходит вследствие того, что соответствующие кетокислоты — щавелевоуксусная и α-кетоглютаровая, образующиеся из них при дезаминировании, являются важными участниками цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот. Как известно, аспарагиновая кислота может также под действием аспар-

---

[1] А. И. Опарин. Совещание по белку. V конф. по высокомолекулярным соединениям. Изд. АН СССР, 1948, стр. 10.

тат-аммиак-лиазы обратимо превращаться в фумаровую кислоту, образующуюся при окислительных превращениях пировиноградной кислоты.

С другой стороны, аспарагиновая и глютаминовая кислоты, возникающие в результате аминирования щавелевоуксусной и α-кетоглютаровой кислот, представляют собой исходные соединения для биосинтеза соответствующих амидов — аспарагина и глютамина, играющих столь важную роль в белковом обмене растений. Вместе с тем глютаминовая кислота, как мы уже отмечали ранее, может давать начало ряду важных аминокислот: пролину, оксипролину, гистидину и другим.

Мы уже указывали выше, что сама пировиноградная кислота, занимающая центральное положение в системе биохимических реакций, разыгрывающихся при брожении и дыхании, также тесно связана с белковым обменом, поскольку при ее аминировании образуется столь важная аминокислота, как аланин, который лежит в основе построения ряда аминокислот: фенилаланина, тирозина, серина и др. Таким образом, из всего изложенного выше очевидно, что окислительно-восстановительные процессы, лежащие в основе брожения и дыхания, теснейшим образом связаны с обменом белков и аминокислот.

С другой стороны, фосфоглицериновый альдегид является исходным веществом для биосинтеза глицерина, а уксусная кислота, образующаяся при окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты, дает начало высокомолекулярным жирным кислотам и стеролам. Таким образом, совершенно ясно, что процессы брожения и дыхания неразрывно связаны также и с обменом липоидов. Вместе с тем нужно подчеркнуть, что липоидный обмен, как и все другие стороны обмена веществ в организме, сопряжен с превращениями белков и аминокислот. Хорошо известно, например, что содержание жира в семенах масличных растений зависит от условий их азотистого питания; точно так же интенсивность биосинтеза жира у ряда микроорганизмов, накапливающих значительные количества жиров (как, например, *Endomyces vernalis*), теснейшим образом связана с условиями азотистого питания.

Нами были также подробно рассмотрены пути образования органических кислот у растительных организмов. При этом мы подчеркивали важную роль пировиноградной и уксусной кислот в образовании целого ряда органических кислот. Вместе с тем мы отмечали теснейшую связь между превращениями органических кислот у высших или низших растений и белковым обменом, в частности характером источников азотистого питания (стр. 444).

Наконец, нужно подчеркнуть, что активный ацетат, образующийся из пировиноградной кислоты, является исходным веществом для биосинтеза жирных кислот, стеролов, терпенов и каучука. Таким образом, ацетат, являющийся продуктом диссимиляции углеводов, служит вместе с тем материалом для биосинтеза в раститель-

ном организме таких сложных соединений, как терпены, стеролы и каучук.

Взаимозависимость и неразрывную связь реакций, лежащих в основе брожения, дыхания, белкового и липоидного обмена, можно представить в виде схемы, приведенной ниже:



Все превращения веществ в организме теснейшим образом связаны с участием в них витаминов и минеральных соединений, в частности фосфорной кислоты. Действительно, самое образование пировиноградной кислоты в процессе диссимиляции углеводов происходит при участии соединенной с белком фосфорной кислоты. Декарбоксилирование пировиноградной кислоты осуществляется благода-

ря каталитическому действию фермента пируватдекарбоксилазы, состоящего из белка и фосфорнокислого эфира витамина B_1. Реакция переаминирования между кетокислотами и аспарагиновой или глютаминовой кислотой идет под действием аминотрансфераз, состоящих из белка и фосфорнокислого эфира производного витамина B_6. Восстановление альдегида в этиловый спирт осуществляется благодаря каталитическому действию пиридиновых дегидрогеназ, содержащих в составе активной группы витамин PP (амид никотиновой кислоты). Декарбоксилирование аминокислот происходит благодаря каталитическому действию соответствующих ферментов, представляющих собой сочетание белка с фосфопиридоксалем. Наконец, синтез белка теснейшим образом сопряжен с превращениями богатых энергией остатков фосфорной кислоты, содержащихся в нуклеопротеидах. Весьма существенно, что участие в обмене веществ фосфорной кислоты и витаминов осуществляется в результате их соединения с белком.

Аминокислоты, образующиеся синтетическим путем или же возникающие в результате гидролиза белка, являются исходным материалом для биосинтеза целого ряда соединений. Так, например, триптофан дает начало никотиновой кислоте, которая, в свою очередь, участвует в построении активной группы пиридиновых дегидрогеназ. Тот же триптофан в результате ряда превращений может давать начало стимуляторам роста растений и микроорганизмов. Гликокол, глютаминовая кислота и цистеин, соединяясь, образуют глютатион — вещество, играющее важнейшую роль в регулировании окислительно-восстановительных процессов и действия ферментов в организме. Соединение других аминокислот в виде циклопептида приводит к образованию такого биологически активного соединения, как грамицидин. В разделе, посвященном алкалоидам, мы уже отмечали, что в биосинтезе этих соединений в качестве исходных веществ участвуют аминокислоты или образующиеся из них амины, а также различные альдегиды, возникающие в результате диссимиляции углеводов. С помощью изотопной методики показано, что аланин, играющий важнейшую роль в аминокислотном и белковом обмене растительных организмов, вместе с тем может являться исходным веществом, используемым растениями на синтез каучука, каротиноидов и жиров. При этом, по-видимому, аланин, подвергаясь декарбоксилированию, образует какое-то двууглеродное соединение (по-видимому, активный ацетил), используемое затем в качестве строительного материала в указанных синтезах.

Однако аминокислоты могут не только играть роль исходного материала для синтеза того или иного соединения, но также могут катализировать целый ряд процессов. Так, например, Н. М. Сисакяном установлено, что некоторые аминокислоты — гликокол, триптофан, цистеин и β-аланин сильно стимулируют биосинтез сахарозы в растениях; это, по-видимому, теснейшим образом связано с влиянием, оказываемым этими аминокислотами на процессы дыха-

ния и адсорбции ферментов на структурных элементах протоплазмы. Кроме того, как показал А. М. Кузин, аминокислоты играют каталитическую роль в процессе биосинтеза терпенов при конденсации уксусного альдегида с другими карбонильными соединениями.

Число примеров, иллюстрирующих органическую связь и взаимозависимость отдельных процессов и сторон обмена веществ, можно было бы умножить. Однако все они лишь в отдаленной степени отражают исключительное многообразие и органическую взаимосвязь процессов, составляющих обмен веществ в организме. В данном случае весьма уместно вспомнить замечание В. И. Ленина о том, что «практика выше (теоретического) познания, ибо она имеет не только достоинство всеобщности, но и непосредственной действительности»[1].

Превращения веществ, происходящие в организме, теснейшим образом связаны не только друг с другом, но и с внешней средой, вне которой существование организма невозможно.

Постоянный обмен веществ с окружающей внешней средой является основным признаком той формы движения материи, которую мы называем жизнью. С особенной четкостью это положение было сформулировано Энгельсом в его труде «Диалектика природы». В работах целого ряда выдающихся представителей нашей отечественной науки это основное положение материалистической биологии получило свое развитие и обоснование. Труды К. А. Тимирязева пронизаны идеей о ведущей роли обмена веществ с окружающей внешней средой в жизни организма; в них подробно рассматриваются и экспериментально исследуются процессы ассимиляции и диссимиляции в их взаимной связи и теснейшем сочетании. Великий русский физиолог И. М. Сеченов указывал, что «организм без внешней среды, поддерживающей его существование, невозможен, поэтому в научное определение организма должна входить и среда, влияющая на него»[2].

Великий преобразователь природы И. В. Мичурин постоянно подчеркивал, что свойства и особенности растений целиком зависят от условий внешней среды, этого могучего фактора, действующего в природе, под влиянием которого сложились все формы организмов.

Современная биохимия располагает огромным материалом, который может иллюстрировать идею о неразрывной связи организма и внешней среды, о влиянии, оказываемом средой на химический состав организма и на происходящие в нем процессы обмена веществ. Мы приведем здесь лишь некоторые данные по этому вопросу.

Если взять такой важнейший показатель химического состава растений и качества растительного сырья, как содержание белка, то еще в 1865 г. профессор Московского университета Н. Е. Ляс-

[1] В. И. Ленин. Философские тетради, 1947, стр. 185.
[2] И. М. Сеченов. «Медицинский вестник», № 26, 1861.

ковский впервые указал на чрезвычайно большое влияние, оказываемое климатическими условиями на содержание белка в пшеничном зерне. На основании анализов пшеницы, полученной из различных районов России, Лясковский пришел к заключению, что «химический состав пшеницы центральной и юго-восточной России отличается довольно резко от состава пшениц западноевропейских» и что «эти изменения в составе зависят по преимуществу от фактора климатического»[1]. Лясковский пришел к выводу что «по мере передвижения с запада на восток Европы, по мере того, как лето становится интенсивнее, а количество выпадающего дождя уменьшается, содержание азота в зерне пшеницы увеличивается. В губернии Тобольской, где температура лета ниже, количество же выпадающего дождя значительнее, чем в наших юго-восточных губерниях, содержание азота также ниже». В заключение он писал: «Наши русские пшеницы содержат, следовательно, более белковых, пластических веществ, они питательнее западноевропейских». Таким образом, подчеркнув исключительно высокое содержание белка в русской пшенице и ее высокое качество как сырья для мукомольной и хлебопекарной промышленности, Лясковский впервые указал на зависимость между климатом и содержанием белка в зерне.

Несколько позже эту же зависимость подчеркнул известный химик, профессор Одесского университета М. Меликов, который в 1900 г. исследовал химический состав южнорусской пшеницы. Многолетние анализы зерна пшеницы и ячменя, проведенные в биохимической лаборатории Всесоюзного института растениеводства, под руководством профессоров Н. Н. Иванова и М. И. Княгиничева, значительно расширили выводы Лясковского. Данные этих анализов послужили основой для составления «белковых» карт Советского Союза, из которых видно, что под влиянием внешних условий содержание белка в пшеничном зерне может колебаться от 9 до 24%.

Дальнейшие исследования показали, что содержание белка в пшеничном зерне зависит от влажности почвы и осмотического давления почвенного раствора. Вместе с тем установлено, что не каждый сорт пшеницы одинаково реагирует на изменение количества осадков и осмотического давления почвенного раствора. Имеются сорта пшеницы, которые при поливе лишь незначительно снижают содержание белка в зерне и дают хлеб лучшего качества, чем другие сорта без полива. Важную роль играет способ орошения. Наконец, огромную роль играет азотистое питание — при внесении в соответствующие сроки достаточного количества азотистых удобрений можно получить высокобелковое, стекловидное зерно.

Таким образом, при рациональном комбинировании различных агротехнических приемов и выборе соответствующих сортов пше-

---

[1] Н. Е. Лясковский. О химическом составе пшеничного зерна, М., 1865.

ницы в орошаемых районах можно получать очень высокие урожаи высококачественного, богатого белком пшеничного зерна.

Если проследить, как влияют условия произрастания на содержание таких веществ, как алкалоиды, образование и превращение которых теснейшим образом связано с белковым и аминокислотным обменом растений, то можно убедиться в том, что внешние условия оказывают огромное влияние на содержание этих веществ. Так, например, по данным А. А. Шмука и А. И. Смирнова, содержание никотина в махорке колеблется от 1,5% до 7,8% на сухое вещество. Значительные колебания в содержании алкалоидов наблюдаются также у целого ряда других растений, например у хинного дерева; при этом установлено, что содержание алкалоидов в коре хинного дерева возрастает по мере повышения местности над уровнем моря. Содержание витамина С в плодах дикого шиповника (*Rosa canina*), по данным В. Н. Букина, колеблется от 100 до 2 165 *мг* на 100 *г* веса сухой мякоти.

Можно было бы привести огромное количество примеров чрезвычайно глубокого влияния, оказываемого условиями внешней среды на содержание в растениях белка, сахаров, алкалоидов, глюкозидов, жиров, витаминов и т. д. Подробные материалы по этому вопросу содержатся в капитальной «Биохимии культурных растений», изданной под редакцией профессора Н. Н. Иванова.

Изменение условий внешней среды сказывается не только на количественном содержании тех или иных веществ, но вызывает в них также глубокие качественные сдвиги. Так, например, под влиянием условий произрастания заметно изменяется аминокислотный состав белков. По данным М. М. Кургатникова, белки гороха, произрастающего в различных районах СССР, заметно отличаются по содержанию аргинина, гистидина, лизина, тирозина и дикарбоновых аминокислот. Под влиянием условий внешней среды сильно изменяется также содержание в масле ненасыщенных жирных кислот и его йодное число. Это ясно видно из нижеследующих данных, приведенных в табл. 27.

Таблица 27

Влияние места произрастания льна на йодное число льняного масла
(по С. Л. Иванову)

Место произрастания льна	Йодное число масла
Архангельск	195—204
Ленинград	185—190
Москва	178—182
Воронеж	170
Кубань	164
Ташкент	154—158

Воздействие условий среды на обмен веществ растения проявляется и в более глубоких изменениях его химического состава. Мы уже указывали ранее, что юган — зонтичное растение, произрастающее в Таджикской ССР, не содержит ядовитых веществ в том случае, если растет в горах и приобретает ядовитые свойства в долинах. Аналогичный факт отмечал в свое время Дарвин, когда указывал, что болиголов, который обычно содержит весьма ядовитый алкалоид — кониин, не содержит его, если произрастает в горах. Ярким примером глубоких качественных сдвигов в химизме растения, происходящих под влиянием условий среды, является ясенец (*Dictamnus fraxinella*). В Средней Азии это растение выделяет значительные количества эфирного масла, вызывающего глубокие ожоги на коже. Тот же самый ясенец под Москвой совершенно безопасен и может быть использован как декоративное растение с красивыми розовыми цветами.

Глубокие сдвиги, происходящие в обмене веществ, а следовательно, и в химическом составе растительных организмов, под влиянием изменяющихся условий внешней среды, теснейшим образом связаны с соответствующими сдвигами в ферментных системах растений. Еще в 1924 г. академик А. Н. Бах установил, что активность ферментов в течение суток значительно колеблется. При этом он высказал предположение, что эти колебания происходят под влиянием изменяющихся условий жизни организма. Наблюдения А. Н. Баха были затем подтверждены и значительно расширены Н. М. Сисакяном, А. Л. Курсановым, Б. А. Рубиным и их сотрудниками, которые детально исследовали суточные и сезонные изменения действия ферментов у плодовых деревьев, сахарной свеклы, картофеля и других растений. Эти исследования показали, что ритмические суточные и сезонные изменения активности ферментов целесообразно приспособлены к соответствующим изменениям условий внешней среды. Так, например, суточные изменения интенсивности синтеза и распада сахарозы в листьях сахарной свеклы теснейшим образом связаны с происходящими в течение суток изменениями условий освещения; закономерное изменение температурного оптимума синтеза и гидролиза крахмала в картофельном растении соответствует общему ходу изменения температуры воздуха в течение вегетационного периода. При этом весьма существенно, что суточные или сезонные сдвиги активности ферментов весьма тесно увязаны с ритмическими изменениями способности протоплазмы к связыванию ферментов. Мы уже указывали ранее, что работы А. И. Опарина и его школы показали, что от этой способности и от интенсивности связывания ферментов белковолипоидными структурами протоплазмы в значительной степени зависит направление и интенсивность ферментативных процессов в растении. Примером тесной связи сезонных изменений ферментативной активности с изменением способности ткани к связыванию ферментов может служить корень сахарной свеклы. По мере развития кор-

ня в его тканях увеличивается «адсорбирующая» способность по отношению к β-фруктофуранозидазе. В результате возрастания способности тканей корня к связыванию β-фруктофуранозидазы почти полностью исчезает гидролитическая активность этого фермента, вследствие чего идет усиленный синтез и накопление сахарозы. Благодаря исключительно высокой «адсорбционной» способности корня сахарной свеклы по отношению к β-фруктофуранозидазе ферментативный аппарат корня приобретает почти односторонее синтезирующее действие.

Таким образом, изменение условий среды — освещения, температуры и т. д. — в течение суток или всего вегетационного периода вызывает соответствующие глубокие изменения в активности и характере действия ферментов, а следовательно, и во всем обмене веществ растения.

Особенно яркие примеры влияния внешней среды на ферментные системы могут быть получены при выращивании микроорганизмов на различных питательных средах. Еще в конце прошлого столетия было показано, что если некоторые бактерии выращивать на питательных средах, содержащих крахмал, то эти микробы образуют значительное количество амилазы, которая отсутствует в бактериях, выращенных на среде, не содержащей крахмала. Подобные опыты привели к возникновению идеи о ферментной адаптации (приспособлении), происходящей при изменении состава среды. Однако, поскольку в таких опытах происходит размножение бактерий, то высказывался взгляд, что в исходной бактериальной культуре имеются отдельные клетки, так называемые варианты, которые содержат в ничтожном количестве фермент, как бы возникающий заново при культивировании бактерий на новой питательной среде. Согласно этому взгляду, упомянутое выше образование амилазы при культивировании бактерий на среде с крахмалом является кажущимся и объясняется тем, что начинают усиленно размножаться те клетки, в которых еще до перенесения на среду с крахмалом имелась амилаза. Однако Ф. Динерт и М. Стефенсон с сотрудниками установили, что некоторые дрожжи, которые обычно не способны сбраживать галактозу, могут быть за короткий срок «воспитаны» таким образом, что они начинают сбраживать этот сахар, причем, что особенно важно, за это время не происходит размножения дрожжей.

В настоящее время накоплен большой экспериментальный материал, который на различных микроорганизмах подтверждает идею о том, что путем изменения условий среды можно заставить микробы образовывать соответствующие ферменты.

По предложению Г. Карстрема, такие ферменты, которые образуются при адаптации микроорганизмов к соответствующему субстрату, получили название адаптивных ферментов; ферменты же, которые постоянно образуются клеткой независимо от состава среды, на которой она растет, были им названы кон-

ститутивными. Термин адаптивный фермент подвергся критике и в настоящее время принят термин индуцируемый фермент, а процесс образования фермента при добавке к среде соответствующего вещества называют индукцией или индуцированным биосинтезом фермента. Противоположным индукции является процесс репрессии, при котором определенное вещество вызывает угнетение биосинтеза данного фермента. Так, например, если кишечная палочка (*Escherichia coli*) растет на среде, не содержащей триптофана, то она в большом количестве образует фермент триптофансинтазу, катализирующий синтез триптофана из индола и серина. Если же к среде добавить триптофан, то биосинтез этого фермента прекращается. В данном случае мы имеем дело со специфической репрессией биосинтеза фермента. Однако существует также неспецифическая репрессия, типичным примером которой является угнетение глюкозой биосинтеза некоторых ферментов у микроорганизмов.

В результате изменения обмена веществ организм приобретает новые свойства, новые признаки. При длительном воздействии определенного сочетания факторов внешней среды эти вновь приобретаемые свойства и признаки закрепляются в процессе развития данного организма и передаются по наследству. Таким образом, под влиянием внешней среды складывается новый тип обмена веществ, возникают новые биохимические, физиологические и морфологические признаки, наследуемые и закрепляемые в потомстве, возникают новые сорта и виды растений.

Биохимия растений накопила в настоящее время огромный материал, свидетельствующий о глубоких биохимических различиях отдельных видов и сортов растений. Эти различия могут быть прослежены как по количественному содержанию того или иного вещества — белка, масла, сахара, крахмала и т. д., так и по более глубоким качественным признакам — аминокислотному составу белков, ферментативной «атакуемости» белка или крахмала и т. д. Так, например, установлено, что содержание диаминокислот — аргинина, гистидина и лизина — в белках стекловидного и обыкновенного риса довольно заметно различается: белок стекловидного риса содержит меньше аргинина и лизина, но значительно больше гистидина. Как показали исследования В. И. Товарницкого, белки различных сортов сои весьма существенно отличаются по содержанию некоторых аминокислот. Так, например, глобулин соевых бобов — глицинин, выделенный из сои «харбинской», содержал 1,65% лизина, а из «гурийской» — 4,58%. Точно так же проведенный М. М. Кургатниковым анализ аминокислотного состава белков различных сортов гороха, выращенного в трех географических точках СССР, показал, что эти сорта различаются по содержанию лизина, цистина, аспарагиновой и глютаминовой кислот; один из сортов резко выделяется высоким содержанием лизина, а другие — высоким содержанием цистина. Ряд исследований показал, что крах-

малу разных сортов кукурузы свойственна различная температура клейстеризации, а крахмал разных сортов пшеницы различается по вязкости растворов в мочевине. Существенные различия установлены в соотношении амилопектина и амилозы в крахмале мозговых и круглых горохов. Весьма важной, с точки зрения понимания хлебопекарных свойств зерна и муки, является различная «атакуемость» амилазами крахмала разных сортов пшеницы.

Различные сорта риса, дающие крупу с разной разваримостью, отличаются соотношением амилозы и амилопектина в крахмале. Это ясно видно из рис. 88, на котором представлены данные, полученные индийскими учеными Б. Рао, А. Мерти и Р. Субрамания.

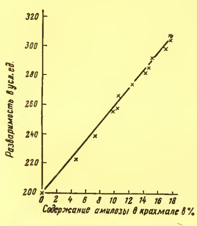


Рис. 88. Связь разваримости риса с содержанием амилозы в крахмале

Специфические особенности обмена веществ, возникающие под влиянием воздействия на развивающееся растение определенного комплекса условий внешней среды, могут приобретать и более глубокий характер, приводя к возникновению новых видов. В этом отношении показательны закономерные изменения в составе масел из семян различных видов сосны, проявляющиеся по мере передвижения с севера на юг. Масла таких видов, как обыкновенная сосна (*Pinus silvestris*) и кедр (*Pinus cembra*), произрастающих в северных областях, содержат значительное количество линоленовой кислоты. Масло из семян произрастающей в Италии пинии (*Pinus pinea*) содержит весьма незначительное количество линоленовой кислоты, а тропические виды сосны, как, например, *Pinus canariensis* и *Pinus longifolia*, полностью утратили способность к биосинтезу этой ненасыщенной жирной кислоты.

Естественно, что специфические видовые особенности обмена веществ находят свое выражение прежде всего в свойствах белков. Так, например, установлено, что спирторастворимые белки (глиадины) пшеницы и ржи различаются по своим физическим свойствам (растворимости, удельному вращению растворов) и по химической структуре, а именно по расположению аминокислотных остатков в полипептидных цепях, образующих молекулу белка. Глиадины различных видов пшеницы существенно отличаются друг от друга по содержанию аминокислот. Глиадин пшеницы спельта (*Triticum Spelta*) содержит 3,07% лизина, обыкновенной мягкой пшеницы (*Triticum vulgare*) — 0,57%, твердой пшеницы (*Triticum durum*) —

1,88% и полбы (*Triticum dicoccum*) — 2,95% лизина; существенные различия установлены также по содержанию в глиадинах этих видов пшеницы таких аминокислот, как аргинин и гистидин. Весьма показательны специфические особенности протеолитических ферментов и различия в «атакуемости» белков протеиназами.

Таким образом, на основании богатого экспериментального материала в настоящее время можно считать твердо установленным, что каждый вид растений имеет специфические белки, качественно отличающиеся от белков других видов по целому ряду признаков и свойств.

Экспериментальное исследование биохимических процессов, связанных с явлениями наследственности и изменчивости, является в настоящее время одной из важнейших задач биологической химии. Это направление в науке, которое можно назвать биохимической генетикой, за последние годы усиленно развивается. Какова материальная основа наследственности, как она изменяется под влиянием различных факторов, каким образом эти факторы влияют на обмен веществ организма — ответ на все эти важнейшие и вместе с тем труднейшие вопросы может быть получен только на основе глубоких экспериментальных исследований.

Центральной проблемой биохимической генетики является проблема наследственной регуляции процесса биосинтеза белков. Нужно сказать, что в этой области за последние годы достигнуты значительные успехи, которые связаны с расшифровкой взаимосвязи между нуклеотидным составом и структурой нуклеиновых кислот, с одной стороны, и составом и структурой синтезируемых белков, с другой (см. стр. 494). Эти замечательные открытия проливают свет на молекулярные основы наследственности и раскрывают заманчивые перспективы на пути познания сущности жизни.

Одним из важных вопросов, возникающих перед биохимиком при изучении явлений наследственности, является вопрос о биохимических процессах при так называемой вегетативной гибридизации. Мичурин на многочисленных примерах показал взаимное влияние привоя и подвоя и наследование признаков, приобретаемых растением под влиянием вегетативной гибридизации. Биохимическое исследование привитых растений свидетельствует о том, что между привоем и подвоем происходит непрерывный интенсивный обмен веществ. Так, например, работы академика А. А. Шмука показали, что под влиянием прививки происходят глубокие изменения в качественном составе алкалоидов различных видов табака. При изучении углеводного обмена прививок подсолнечника и земляной груши, а также пшеницы и ржи, установлены существенные изменения в качественном составе углеводов привоя и подвоя и их взаимное влияние. Исследования Н. М. Сисакяна, а также В. М. Клечковского и В. Н. Столетова, произведенные с помощью меченого фосфора, свидетельствуют о наличии постоянного обмена фосфорных соединений между привоем и подвоем.

Наследование признаков, приобретаемых растениями под влиянием прививки, было доказано И. В. Мичуриным на очень большом числе примеров. Он установил, что с помощью прививки растению может быть придан любой желательный признак — холодостойкость, лучший вкус плодов, их лежкость при хранении и т. д., причем этот признак будет закреплен в семенном потомстве. Теория вегетативной гибридизации растений в настоящее время далее развита академиками Н. В. Цициным, Т. Д. Лысенко и другими.

Появление у семенного потомства вегетативных гибридов новых признаков сопровождается наследованием определенных биохимических свойств. Так, например, Н. М. Сисакяном, И. Е. Глущенко и Н. А. Васильевой было установлено, что в семенных потомствах, полученных от вегетативных гибридов томатов, проявляются биохимические признаки, свойственные как привою, так и подвою; вместе с тем в ряде случаев возникают новые биохимические свойства и признаки, отсутствовавшие в исходном привое и подвое.

Новые формы растительных организмов, возникающие в результате воздействия факторов внешней среды, являются источником образования новых сортов и видов. Изменение типа обмена веществ и возникновение новых признаков закрепляются путем их наследования и усиливаются благодаря естественному или искусственному отбору. Искусственный отбор в течение нескольких поколений растений, обладающих тем или иным ценным признаком, позволил создать путем селекции высокопродуктивные сорта различных культурных растений. Таким образом были созданы сорта сахарной свеклы с очень высокой сахаристостью корня, достигающей 19—20%; в результате селекции и усовершенствования технологии сахарного производства выходы сахара при переработке свеклы увеличились за 100 лет почти в два с половиной раза. Подобное возрастание сахаристости корня свеклы связано с глубокими изменениями в обмене веществ, прежде всего с усилением интенсивности ферментативного синтеза сахарозы. Действительно, как указывает Б. А. Рубин, параллельно возрастанию содержания в свекле общего количества сахаров имело место увеличение как абсолютной, так и относительной доли сахарозы и снижение доли моносахаридов. Это ясно видно из сопоставления данных, характеризующих общее содержание сахаров и содержание сахарозы у кормовой, столовой и сахарной свеклы:

Свекла	*Общая сумма сахаров в %*	*Сахароза в % от суммы сахаров*
Кормовая	4,8 — 5,5	75 — 80
Столовая	9,0 — 11,0	80 — 85
Сахарная	17,0 — 19,0	95 — 98

Точно так же переход от диких форм арбуза к кормовому и столовому арбузу неразрывно связан с возникновением и постепенным

усилением способности ткани к ферментативному синтезу сахарозы. Так же, как и у свеклы, возрастание общего количества сахаров сопровождается нарастанием процентного содержания сахарозы, что ясно видно из нижеследующих данных:

Арбуз	*Общая сумма сахаров в %*	*Сахароза в % от суммы сахаров*
Дикий	1,4	0—0,1
Кормовой	5,2	18,0
Столовый	8,1	45,8

Селекция форм картофеля, обладающих повышенной крахмалистостью клубней, дала возможность создать за сравнительно короткий период новые высокоурожайные сорта с крахмалистостью, достигающей 20%.

Кукурузный крахмал обычно содержит 21—23% амилозы и 77—79% амилопектина. Селекционерами в содружестве с биохимиками выведены новые сорта кукурузы, содержащие в крахмале до 82% амилозы. Крахмал, полученный из такой кукурузы, является особенно ценным сырьем для некоторых отраслей химической промышленности. Путем селекции выведены также сорта кукурузы, содержащие в зерне до 15% жира вместо обычных 4—5%.

Выдающимся советским селекционером В. С. Пустовойтом выведены сорта подсолнечника, в семенах которых содержится до 46—51% масла, что намного превышает содержание масла в обычных сортах подсолнечника (25—30%). Отдельные же биотипы подсолнечника, выведенные В. С. Пустовойтом, отличались рекордно высокими показателями (до 58% масла в семенах).

Необходимо подчеркнуть, что значительные успехи, достигнутые селекцией в создании новых высокопродуктивных форм различных культурных растений, теснейшим образом связаны с применением такой системы агротехнических мероприятий, которая обеспечивает наилучшие условия для проявления и осуществления тех сторон обмена веществ, совокупность которых приводит к максимальному накоплению в растении того или иного вещества: сахарозы, крахмала, белка, масла и т. д.

Тот или иной сорт, созданный селекционером путем направленного изменения природы растений и последующего отбора наиболее ценных организмов для их дальнейшего массового размножения, будет проявлять в полной мере свои ценные хозяйственные качества — высокую урожайность, сахаристость, масличность и т. д. — только лишь при определенных агротехнических мероприятиях, обеспечивающих наилучшие условия для роста и развития растений. Таким образом, ценные хозяйственные качества сорта могут проявиться только лишь в определенных условиях жизни, в опре-

деленных условиях внешней среды, при определенном сочетании различных агротехнических приемов.

Мичурин многократно указывал, что определенным признакам и свойствам организмов соответствуют строго определенные условия жизни, необходимые для развития и проявления данного признака или свойства.

Наглядным доказательством этого важнейшего положения является деятельность Героев Социалистического Труда и передовиков колхозного и совхозного земледелия, получающих рекордные урожаи на основе применения мичуринского учения и передовой агротехники.

Путем применения соответствующих агротехнических приемов тот или иной хозяйственно ценный признак данного сорта может быть существенно усилен. Мичурин неоднократно отмечал ту важную роль, которую играет агротехника в проявлении и изменении желательных свойств культурных растений. Так, например, он указывал, что изменение обмена веществ у плодовых растений, вызванное удобрением почвы фосфорной кислотой, приводит к раннему созреванию плодов, в то время как внесение азотистых удобрений замедляет их созревание; от особенностей почвы очень сильно зависит лежкость плодов при хранении — тяжелая глинистая почва дает более лежкие плоды.

Современная биохимия растений располагает колоссальным материалом, свидетельствующим об исключительно важной роли агротехнических мероприятий в изменении обмена веществ у культурных растений и придании им желательных хозяйственных свойств. Так, например, известно, что фосфорные удобрения способствуют увеличению масличности семян всех основных масличных культур, а также повышению сахаристости корней сахарной свеклы. Как установлено Н. М. Сисакяном, благоприятное воздействие фосфорных удобрений на сахаристость сахарной свеклы связано с глубокими изменениями в ферментативной системе растения. Большое влияние на обмен веществ, а следовательно, и на формирование хозяйственно важных признаков, оказывают не только характер применяемых удобрений, но также сроки их внесения. Работами института консервной промышленности показано, что в зависимости от форм, доз и сроков внесения минеральных удобрений, содержание сухих веществ в плодах томатов может сильно изменяться. В вегетационных опытах плоды контрольных растений содержали 4,6% сухих веществ, в то время как в отдельных вариантах опытов с удобрениями содержание сухих веществ в плодах достигало 8,2%. Таким образом, правильное применение удобрений в сочетании с выведением лучших сортов томатов поможет повысить содержание сухих веществ в плодах, что является весьма важной проблемой в консервной промышленности.

Мощным средством направленного изменения обмена веществ и повышения продуктивности растений является полив. В резуль-

тате ряда исследований установлено, что под влиянием орошения повышается, например, содержание масла в семенах масличных культур и резко возрастает средний урожай масла с единицы площади. Установлено также, что в засушливых районах все агротехнические мероприятия, способствующие повышению влажности почвы, способствуют и накоплению масла: так, снегозадержание в условиях Саратовской области дает заметное увеличение масличности семян подсолнечника.

Влияние определенного комплекса агротехнических мероприятий сказывается не только в течение периода роста и развития данного поколения растений, но и закрепляется в потомстве. В этом отношении показательны опыты, проведенные биохимической лабораторией Всесоюзного института растениеводства. Этими опытами установлено, что высокая белковистость зерна пшеницы, вызванная применением соответствующих удобрений, проявляется и закрепляется затем в семенном потомстве.

Таким образом, при помощи определенного комплекса агротехнических мероприятий мы не только создаем гармоническое единство организма и необходимых для его жизни условий, обеспечивающих максимальное проявление тех или иных ценных хозяйственных признаков, но вместе с тем вызываем соответствующие сдвиги в типе обмена веществ, закрепляемые благодаря наследственности в потомстве.

Целью современной биохимии является выяснение закономерностей обмена веществ и его неразрывной связи с условиями жизни организма для управления обменом веществ и переделки организмов биохимическими методами в желательном для человека направлении.

ЛИТЕРАТУРА

Анфинсен К. Молекулярные основы эволюции. ИЛ, М., 1962.

Белозерский А. Н. и Спирин А. С. Состав нуклеиновых кислот и систематика. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 1, стр. 64, 1960.

Благовещенский А. В. Биохимические основы эволюционного процесса у растений. Изд. АН СССР, М., 1950.

Глущенко И. Е. Вегетативная гибридизация растений. Сельхозгиз, М., 1948.

Дейч Т. Л. и Соренин Э. Т. Аминоконцевые группы глиадинов и их изменения под влиянием межродовой гибридизации. «Докл. АН СССР» т. 98, № 4, стр. 623, 1954.

Ермаков А. И. Биохимические изменения у привитых растений. «Вестник социалистического растениеводства», т. 2, стр. 57, 1940.

Иванов С. Л. Климаты земного шара и химическая деятельность растений. «Ж. прикл. химии», т. 1, вып. 6, стр. 299, 1928.

Ильин Г. С. Общий принцип синтеза алкалоидов в привитых растениях рода *Nicotiana*. «Биохимия», т. 14, вып. 6, стр. 552, 1949.

Клечковский В. М., Столетов В. Н. и Евдокимова Т. П. Обмен меченого фосфора у привитых растений. «Изв. АН СССР». Сер. биол. № 3, стр. 73, 1951.

Кретович В. Л. и Буидель А. А. Биохимические особенности зерна сорнополевой ржи. «Докл. АН СССР», т. 73, № 6, стр. 1243, 1950.

Кургатников М. М. Качественная изменчивость в белке и крахмале семян гороха. «Тр. по прикл. ботан. генет. и селекции», сер. 3, т. 15, стр. 83, 1936.

Курсанов А. Л. Адсорбция ферментов тканями высших растений. «Биохимия», т. 11, вып. 4, стр. 333, 1946.

Курсанов А. Л. Взаимосвязь физиологических процессов в растении. Изд. АН СССР, М., 1960.

Курсанов А. Л., Исаева Е. В. и Попатенко В. Н. К вопросу о физиологическом значении адсорбции ферментов тканями растений. «Биохимия», т. 11, вып. 5, стр. 401, 1946.

Лысенко Т. Д. Агробиология. Сельхозгиз, М., 1948.

Лясковский Н. Е. О химическом составе пшеничного зерна. М., 1865.

Молекулярная генетика (Генетический код). Сборник статей, под ред. И. Л. Кнуянца и С. И. Алиханяна. ИЛ, М., 1963.

Опарин А. И. Ферменты в жизненном цикле растений. Юб. сб., посв. тридцатилетию Великой Октябрьской социалистической революции. 4. 2, Изд. АН СССР, М., 1947.

Павлинова О. А. Метаболизм проводящих тканей. «Изв. АН СССР», Сер. биол., № 2, стр. 239, 1961.

Прянишников Д. Н. О влиянии влажности почвы на развитие растения. «Журнал опытной агрономии», т. I, стр. 1, 1900.

Рубин Б. А. Мичуринское учение и некоторые вопросы биохимии растительного сырья. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 6, стр. 677, 1949.

Рубин Б. А. и Германова В. Ф. О роли корней в жизнедеятельности растений. «Успехи соврем. биол.», т. 45, вып. 3, стр. 366, 1958.

Сисакян Н. М. Роль фосфора в процессе сахаронакопления у сахарной свеклы. «Биохимия», т. 1, вып. 3, стр. 301, 1936.

Сисакян Н. М. и Васильева Н. А. (при участии Т. В. Степановой). О природе действия аминокислот на синтез сахарозы в живой растительной клетке. «Биохимия», т. 15, вып. 5, стр. 394, 1950.

Сисакян Н. М., Кобякова А. М. и Васильева Н. А. Ферментативные периоды в листьях и их связь с развитием запасных и репродуктивных органов. «Биохимия», т. 10, вып. 4, стр. 303, 1945.

Сисакян Н. М., Кобякова А. М. и Васильева Н. А. Суточный ритм осмотического давления клеточного сока и его связь с ферментативным синтезом и распадом сахарозы. «Биохимия», т. 11, вып. 5, стр. 413, 1946.

Столетов В. Н. Мичуринское учение о направленном изменении природы растений. «Философские вопросы современной биологии». Сб. статей. Изд. АН СССР, М., 1951.

Строганов Б. П., Шевякова Н. И. и Лапина Л. П. О механизме токсического действия солей на растения. «Физиология устойчивости растений (морозоустойчивость, засухоустойчивость и солеустойчивость)». Труды конференции 3—7 марта 1959 г. Изд. АН СССР, М., 1960.

Товарницкий В. И. Материалы по биохимической характеристике сортов у сои. «Изв. АН СССР». Сер. биол., № 6, стр. 1903, 1937.

Цицин Н. В. Отдаленная гибридизация растений. «Природа» № 1, стр. 21, 1954.

Шарапов Н. И. Химизм растений и климат. Изд. АН СССР, М. — Л., 1954.

Шмук А. А. Биохимические изменения привитых растений. «Успехи соврем. биол.», т. 21, вып. 1, стр. 109, 1946.

Шпигельман Г. Современное состояние проблемы индуцированного

синтеза ферментов. Сб. «Современные проблемы биохимии», ИЛ, М., 1957.
Эволюционная биохимия. Труды V Международного биохимического конгресса, Симпозиум III, Изд. АН СССР, М., 1962.
Haldane J. B. S. The Biochemistry of Genetics. G. Allen a. Unwin, London, 1954.
A Symposium on the Chemical Basis of Heredity. Edited by William D. Mc. Elroy and Bentley Glass. Baltimore, Md. The John Hopkins Press; London; Oxford University Press, 1957.
Zamenhof S. The Chemistry of Heredity. Ch. C. Thomas Publ, Springfield, Illinois, U. S. A., 1959.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Б

В

Г

Д

Е

Й

К

Л

М

Н

О

П

С

Т

У

Х

Ц

Я

ОГЛАВЛЕНИЕ

Вацлав Леонович Кретович

Основы биохнмни растений

Редактор *В. И. Черкасова*
Художественный редактор *Н. Л. Кузнецова*
Технический редактор *Т. Д. Гарина*
Корректор *Г. И. Кострикова*

Сдано в набор 11/Х-63 г. Подписано к печати 17/VI1-64 г. Бумага $60\times90^1/_{16}$. 36,75 + 0,087 цв. вкл. = 36,84 печ. л. 37,88 + 0,02 цв. вкл. уч.-нзд. л. Тнраж 12 000 экз. Т — 11121. Изд. № Е48/63. Цена 1 р. 34 к. Переплет № 7. Зак. 452.

Издательство «Высшая школа», Москва, И-51, ул. Неглинная, 29/14.

Саратовский полнграфнческнй комбинат Росглавполнграфпрома Государственного комитета Совета Мнннстров РСФСР по печатн, г. Саратов, ул. Чернышевского, 59.

[illegible]

[illegible]